



# Les micro-éveils chez l'homme : étude par enregistrements intracérébraux

Laure Peter-Derex

## ► To cite this version:

Laure Peter-Derex. Les micro-éveils chez l'homme : étude par enregistrements intracérébraux. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Claude Bernard - Lyon I, 2015. Français. NNT : 2015LYO10314 . tel-01272056

**HAL Id: tel-01272056**

**<https://theses.hal.science/tel-01272056>**

Submitted on 10 Feb 2016

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# **THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON**

Délivrée par

**L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1**

**L'ECOLE DOCTORALE NEUROSCIENCES ET COGNITION**

**(ED 476 NSCo)**

pour l'obtention du

**DIPLOME DE DOCTORAT**

**Mention Neurosciences**

(Arrêté du 7 Août 2006)

Soutenue publiquement le 11 décembre 2015

**Par**

**Mme Laure PETER-DEREX**

**LES MICRO-EVEILS CHEZ L'HOMME :**

**Etude par enregistrements intracérébraux**

**Directeurs de thèse: Mme Hélène BASTUJI  
M. Michel MAGNIN**

**Membres du Jury: M. Lino NOBILI (rapporteur)  
M. Xavier DROUOT (rapporteur)  
Mme Isabelle ARNULF  
M. François MAUGUIERE**



# UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

## **Président de l'Université**

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie  
Universitaire

Vice-président du Conseil Scientifique

Directeur Général des Services

**M. François-Noël GILLY**

M. le Professeur Hamda BEN HADID

M. le Professeur Philippe LALLE

M. le Professeur Germain GILLET

M. Alain HELLEU

## ***COMPOSANTES SANTE***

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles  
Mérieux

Faculté d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Département de formation et Centre de Recherche en  
Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE

Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON

Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS

Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA

Directeur : M. le Professeur Y. MATILLON

Directeur : Mme. la Professeure A-M. SCHOTT

## ***COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE***

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et  
Sportives

Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon

Polytech Lyon

Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Ecole Supérieure du Professorat et de l'Education

Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. F. DE MARCHI

Directeur : M. le Professeur F. FLEURY

Directeur : Mme Caroline FELIX

Directeur : M. Hassan HAMMOURI

Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE

Directeur : M. le Professeur Georges TOMANOV

Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID

Directeur : M. Jean-Claude PLENET

Directeur : M. Y.VANPOULLE

Directeur : M. B. GUIDERDONI

Directeur : M. P. FOURNIER

Directeur : M. G. PIGNAULT

Directeur : M. le Professeur C. VITON

Directeur : M. le Professeur A. MOUGNIOTTE

Directeur : M. N. LEBOISNE

A Laurent, mon plus grand fan (dixit), envers et contre tout, définitivement partial, dont les encouragements absolument et heureusement subjectifs m'ont aidé à dépasser les périodes de découragement qui ont émaillé ce travail.

A mon fils, Matthieu, ce petit garçon extraordinaire, incroyablement pertinent, et compréhensif envers sa maman préoccupée par ses "petits feux" (comprendre: analyses temps-fréquence). C'est une joie indicible que de te voir grandir, chercher à comprendre le monde qui t'entoure, et à vouloir déjà le changer...

A Thomas et Victoria, pour leur tolérance, leurs encouragements et leurs questions pleines de bon sens qui contribuent au dynamisme de nos discussions familiales,

A mes parents, dont la constance et l'exigence ont certainement nourri ma persévérance,

A mes sœurs, que j'admire, et à notre connivence encore essentielle pour moi aujourd'hui,

A Servane, Maud, et mes amitiés d'Internat dont la présence, même à distance, m'est précieuse au quotidien,

A mes confères et consoeurs épiléptologues et hypnologues qui partagent la même passion que moi pour la neurophysiologie, et que je remercie pour les échanges toujours riches autour de situations « électro-cliniques »,

A mes compagnons et compagnes de thèse, aux membres du laboratoire toujours prêts à partager leurs connaissances et savoir-faire, et à Luis Garcia Larrea qui m'a accueillie dans son laboratoire.

Ce travail a été réalisé sous la direction du Docteur Hélène Bastuji et de Michel Magnin au sein du centre de Recherche en Neurosciences de Lyon U1028/UMR5292, dans l'équipe Neuropain dirigée par le Docteur Luis Garcia Larrea (Unité d'Hypnologie, 59 Bd Pinel, 60677 Bron Cedex). Les enregistrements intra-cérébraux des patients épileptiques ont été effectués dans le service d'Explorations Fonctionnelles Neurologiques et d'Epileptologie dirigé par le Professeur François Mauguière puis par le Docteur Sylvain Rheims, à l'Hôpital Neurologique de Lyon.

Je souhaite exprimer ma reconnaissance

A Mme le Docteur Hélène Bastuji, que j'admire pour ses qualités de médecin et de chercheur. Elle a encouragé ma formation à la médecine du sommeil, et a été pour moi une directrice de thèse parfaite, à chaque étape du travail, me laissant la liberté de la réflexion (et de l'organisation...) lorsque je le souhaitais, ou impliquée avec la même frénésie que moi lorsqu'il fallait terminer les analyses statistiques (oh, doux week-end de mai passés à multiplier les ANOVA...). Je la remercie pour son implication dans ce travail.

A Monsieur Michel Magnin, dont la connaissance de la neurophysiologie et l'acuité de la réflexion ont été cruciales pour ce travail. Nos séances de « brain storming » du mardi matin m'ont toujours été très précieuses. Je le remercie d'avoir accepté de consacrer du temps à la direction de cette thèse.

A Monsieur le Professeur Lino Nobili, qui a bien voulu accepter la charge de Rapporteur de Thèse en dépit de la barrière linguistique. J'attends avec impatience chacune de ses publications, tant la thématique de ses recherches me paraît proche de mes questionnements. C'est un grand honneur pour moi qu'il soit présent pour cette soutenance.

A Monsieur le Professeur Xavier Drouot, qui a bien voulu accepter la charge de Rapporteur de Thèse. J'ai une grande admiration pour son expertise en neurophysiologie et en médecine du sommeil. Je le remercie pour sa disponibilité et son enthousiasme.

A Madame le Professeur Isabelle Arnulf, qui me fait l'honneur de faire partie du jury. L'excellence de ses compétences cliniques et scientifiques, ainsi que son action dynamique en faveur de la médecine du sommeil et de la transmission des connaissances en font pour moi un modèle.

A Monsieur le Professeur François Mauguère, qui me fait l'honneur de faire partie du jury. Il sait l'admiration que j'ai pour ses qualités d'enseignant, de chercheur et de médecin, pour son implication dans les projets scientifiques et pour le soutien qu'il sait apporter à ses collaborateurs.

## RESUME

Trois états de vigilance, caractérisés par une activité cérébrale spécifique, sont habituellement décrits chez l'Homme: la veille, le sommeil lent et le sommeil paradoxal. Cependant, certaines situations cliniques comme les parasomnies ou l'inertie de sommeil, ainsi que des travaux expérimentaux récents chez l'animal et chez l'homme, suggèrent la possibilité d'états intermédiaires ou transitionnels. L'étude des micro-éveils apparaît pertinente pour appréhender les phénomènes de transition entre états de vigilance. Pour caractériser les micro-éveils chez l'Homme, nous avons enregistré l'activité EEG au cours de micro-éveils "spontanés" ou déclenchés par des stimulations nociceptives, en sommeil lent et en sommeil paradoxal, chez 8 patients épileptiques pharmaco-résistants bénéficiant d'un bilan pré-chirurgical invasif stéréo-électro-encéphalographique. Les puissances spectrales dans différentes bandes de fréquence au cours des micro-éveils ont été comparées à celles déterminées sur le signal précédant le micro-éveil. Le thalamus (pulvinar médian), le cortex sensorimoteur primaire et plusieurs aires corticales associatives ont été étudiés. Nous avons observé 1) une grande reproductibilité intra et interindividuelle des modifications d'activité EEG associées aux micro-éveils dans le thalamus, et qui correspondent à un état intermédiaire entre la veille et le sommeil. 2) une importante hétérogénéité des modes d'activation corticale au cours des micro-éveils, quand bien même l'activation sous-corticale est stéréotypée. Différents facteurs participent à cette variabilité : le cortex considéré, le stade de sommeil au cours duquel le micro-éveil survient, la nature du stimulus à l'origine du micro-éveil, ou encore des phénomènes homéostatiques. 3) que la composition spectrale du signal au cours des micro-éveils dans le cortex était différente de l'état de veille, ce qui situe les micro-éveils hors du spectre des états de vigilance classiquement différenciés et constitue un argument en faveur du fait que la transition entre le sommeil et la veille au niveau cortical ne se fait pas de façon abrupte et binaire. Ainsi, les micro-éveils apparaissent comme des états d'activation cérébrale régulés au moins en partie localement par des mécanismes impliqués dans la gestion d'une double nécessité théoriquement contradictoire : permettre au dormeur de réagir à des stimulations pertinentes, tout en préservant la continuité du sommeil.

**MOTS CLEFS:** Sommeil, Micro-éveils, EEG, Cortex, Thalamus, Homme.

# SUMMARY

## **Arousals in human sleep: a stereo-electroencephalographic study**

Wakefulness, non rapid eye movement (NREM) and rapid eye movement (REM) sleep are characterized by specific brain activities. However, recent experimental findings as well as various clinical conditions (parasomnia, sleep inertia) have revealed the presence of transitional states. Brief intrusions of wakefulness into sleep, namely arousals, appear as relevant phenomena to characterize how brain commutes from sleep to wakefulness. Using intra-cerebral recordings in 8 drug-resistant epileptic patients we analyzed electroencephalographic (EEG) activity during spontaneous or nociceptive-induced arousals in NREM and REM sleep. Wavelet spectral analyses were performed to compare EEG signals during arousals, sleep and wakefulness, simultaneously in the thalamus, and primary, associative or high order cortical areas. We observed that: 1) thalamic activity during arousals is stereotyped and its spectral composition corresponds to a state in-between wakefulness and sleep 2) patterns of cortical activity during arousals are heterogeneous, their manifold spectral composition being related to several factors such as sleep stages, cortical areas, arousal modality ("spontaneous" vs nociceptive-induced) and homeostasis; 3) spectral compositions of EEG signals during arousal and wakefulness differ from each other. Thus, stereotyped arousals at the thalamic level seem to be associated with different patterns of cortical arousals due to various regulation factors. These results suggest that human cortex does not shift from sleep to wake in an abrupt binary way. Arousals may be considered more as different states of the brain than as "short awakenings". This phenomenon may reflect the mechanisms involved in the compromise needed to be found between two main contradictory functional necessities, preserving the continuity of sleep and maintaining the possibility to react.

**KEY WORD:** Sleep, Arousal, EEG, Cortex, Thalamus, Humans

# **TABLE DES MATIERES**

<b>INTRODUCTION</b>	<b>10</b>
<b>1. Introduction générale</b>	<b>10</b>
<b>2. Veille et Sommeil</b>	<b>11</b>
<b>2.1. Les états de vigilance chez l'Homme : phénoménologie, anatomie fonctionnelle, neurophysiologie et neurobiologie</b>	<b>11</b>
2.1.1 La veille	
2.1.2 Le sommeil lent	
2.1.3 Le sommeil paradoxal	
<b>2.2. Alternance des états de vigilance chez l'Homme</b>	<b>17</b>
2.2.1 Veille > Sommeil lent	
2.2.2 Sommeil lent > Sommeil paradoxal	
2.2.3 Sommeil > Veille	
<b>2.3. Régulation corticale des états de vigilance</b>	<b>19</b>
<b>3. Les micro-éveils</b>	<b>20</b>
<b>3.1. Définition(s) des micro-éveils : des phases d'activation transitoire aux micro-éveils de l' American Sleep Disorders Association (ASDA)</b>	<b>21</b>
<b>3.2. Physiologie des micro-éveils : interaction entre les micro-éveils et la structure du sommeil</b>	<b>22</b>

3.3. Signification et conséquences des micro-éveils sur le sommeil : le micro-éveil comme marqueur pathologique ou comme élément constitutif du sommeil ?	26
---	----

3.4. Etude des micro-éveils par enregistrements intra-cérébraux	28
---	----

<b>MATERIELS ET METHODES</b>	<b>29</b>
------------------------------	-----------

1. Patients	29
-------------	----

2. Enregistrements	30
--------------------	----

2.1. Procédure de Stéréo-électroencéphalographie	
--	--

2.2. Sites anatomiques étudiés	
--------------------------------	--

2.3. Enregistrements nocturnes	
--------------------------------	--

2.4. Stimulations laser au cours du sommeil	
---	--

3. Analyse du signal	34
----------------------	----

3.1. Analyse visuelle du sommeil et détection des micro-éveils	
--	--

3.2. Analyse spectrale	
------------------------	--

3.3. Analyse statistique	
--------------------------	--

<b>RESULTATS</b>	<b>41</b>
------------------	-----------

1. Les différents modes d'activation dans le thalamus et le cortex	41
--	----

1.1. Le thalamus	
------------------	--

1.2. Le cortex	
----------------	--

2. Déterminants de ces modes d'activation	55
---	----

2.1. Impact du facteur à l'origine du micro-éveil	
---	--



2.2. Effet lié à l'homéostasie	
3. Durée des micro-éveils	58
4. Différences entre les micro-éveils et l'état de veille	59
<b>DISCUSSION</b>	<b>62</b>
1. Homogénéité des micro-éveils thalamiques	62
2. Hétérogénéité des micro-éveils corticaux	64
2.1. Hétérogénéité en fonction du stade de sommeil	
2.2. Hétérogénéité en fonction du cortex considéré: sommeil local	
2.3. Hétérogénéité en fonction de la nature du stimulus	
2.4. Hétérogénéité liée au facteur homéostatique	
3. Les micro-éveils ne sont pas des intrusions de veille au cours du sommeil	71
4. Limites	73
<b>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES</b>	<b>76</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>78</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>88</b>
<b>ARTICLE issu du travail de thèse</b>	<b>89</b>

<b>ARTICLES en lien avec la thèse</b>	<b>105</b>
	<b>116</b>
<b>Curriculum Vitae</b>	<b>125</b>

## **LISTE DES ABBREVIATIONS**

**AMS : Aire Motrice Supplémentaire**

**BF : Bande de Fréquence**

**CAP : Pattern Cyclique Alternant**

**CCA : Cortex Cingulaire Antérieur**

**CCP : Cortex Cingulaire Postérieur**

**CFDL : Cortex Frontal Dorsolatéral**

**CIA : Cortex Insulaire Antérieur**

**CIAI : Cortex Insulaire Antéro-Inférieur**

**CIAS : Cortex Insulaire Antéro-Supérieur**

**CIP : Cortex Insulaire Postérieur**

**CIPI : Cortex Insulaire Postéro-Inférieur**

**CIPS : Cortex Insulaire Postéro-Supérieur**

**CMP : Cortex Moteur Primaire**

**CSP : Cortex Somesthésique Primaire**

**CPM : Cortex Pariétal Médial**

**CPDL : Cortex pariétal Dorso-Latéral**

**EEG : électro-encéphalographie**

**EMG : électromyographie**

**IRM : Imagerie par résonance Magnétique**

**LB : Ligne de Base**

**ME : Micro-Eveil**

**PET : Tomographie par Emission de Positons**

**SL : Sommeil Lent**

**SP : Sommeil Paradoxal**

**TF : Temps-Fréquence**

**Noyaux Thalamiques; PuM : Pulvinar Médian ; CL : Central Latéral ; VPL : Ventral Postéro-Latéral**

# INTRODUCTION

## 1. Introduction générale

Les premières réflexions sur les états de vigilance chez l'homme remontent à Aristote. Dans son *Traité du Sommeil et de la Veille* il décrivait que « le sommeil et la veille sont dans la même partie de l'animal, parce que ce sont des contraires qui se produisent mutuellement, et qui sont par la nature dans un seul et même sujet ». Il supposait déjà que « c'est bien toujours le lieu du cerveau qui est le siège principal du sommeil » (Aristote, IV<sup>ème</sup> siècle av J.C.). Il faudra attendre le début du XX<sup>ème</sup> siècle et l'invention de l'Electro-encéphalographie (EEG) par Hans Berger pour que des modifications de l'activité électrique du cerveau soient mises en relation avec des changements de l'état comportemental (Berger, 1929). Les premiers enregistrements EEG de sommeil associés à une description de plusieurs stades différenciés seront réalisés en 1937 (Loomis et al., 1937). Par la suite, le sommeil paradoxal (ou Rapid Eye Movement (REM)-sleep), sera individualisé (Dement and Kleitman, 1957, Jouvet et al., 1959). A partir de ces travaux électro-physiologiques sera développée une codification internationale des stades de sommeil (Rechtschaffen and Kales, 1968).

Ainsi, trois états de vigilance sont décrits chez l'homme : la veille, le sommeil lent (SL) et le sommeil paradoxal (SP). Chacun de ces états se caractérise par une activité cérébrale spécifique qui sous-tend un état fonctionnel de perception et de réactivité différent. L'alternance entre ces états dépend de mécanismes homéostatiques et circadiens, et fait appel à des processus neurochimiques complexes impliquant de vastes réseaux neuronaux. Cependant, si chacun des états de vigilance apparaît stable et homogène, l'étude micro-architecturale du sommeil montre que de brèves périodes d'activation, appelées micro-éveils (ME), fragmentent la continuité du sommeil lent et du sommeil paradoxal.

## 2. Veille et Sommeil

### 2.1. Les états de vigilance chez l'Homme

La description des états de vigilance repose sur l'observation phénoménologique des comportements associés à ces états, des enregistrements électrophysiologiques (EEG de surface, enregistrements électromyographiques (EMG), enregistrements intracérébraux de potentiels de champs locaux, enregistrements intracellulaires), des analyses d'imagerie fonctionnelle (essentiellement tomographie par émission de positrons (PET) en  $H_2^{15}O$  qui permet de mesurer le débit sanguin cérébral et d'en déduire l'activité neuronale associée) et des études neurochimiques (pour revues, voir: Saper et al., 2010, Krueger et al., 2008, Maquet, 2000, Lee and Dan, 2012, Brown et al., 2012).

#### 2.1.1. La Veille

- *Comportement*

Sur le plan comportemental, le sujet est actif, capable de percevoir les stimulations et d'y réagir. Il est conscient.

- *Activité électrophysiologique*

L'activité EEG de scalp enregistrée chez un sujet éveillé est rapide et de bas voltage ; elle est dite désynchronisée et reflète un état d'activation cérébrale. Chez le sujet en état de veille calme, au « repos » les yeux fermés, on observe une activité alpha occipitale entre 8 et 12 Hz. L'EMG montre un tonus musculaire présent, plus ou moins élevé selon l'activité motrice du sujet.

- *Imagerie fonctionnelle cérébrale*

A la veille le débit sanguin cérébral régional est très variable, dépendant des tâches dans lesquelles le sujet est engagé. Au « repos », en l'absence de tâche spécifique, les régions activées sont les cortex préfrontaux dorso- et ventro-médian, postérieur médian (cingulaire postérieur, précunéus et rétrosplénial), et postérieur latéral (Brodmann areas (BA) 39 et 40 (lobe pariétal) ; BA 22 (lobe temporal) ; BA 19 (lobe occipital)). Cet

ensemble de structures constitue ce qu'il est convenu d'appeler le réseau du mode par défaut (Raichle et al., 2001, Gusnard and Raichle, 2001).

- *Neurobiologie*

L'état de veille est contrôlé par des systèmes excitateurs ascendants situés dans le tronc cérébral au niveau du pont. Les neurones *cholinergiques* des noyaux pédiculo-pontin et tegmental latérodorsal, les neurones *monoaminergiques* (locus coeruleus noradrénergique, raphé dorsal et médian sérotoninergique (Monti, 2010), les neurones dopaminergiques adjacents au raphé dorsal), les neurones histaminergiques du noyau tubéro-mamillaire et les neurones *glutamatergiques* (noyau para-brachial et de l'aire précoeruleus) projettent sur le prosencéphale, à la fois sur les structures diencephaliques (thalamus, et hypothalamus latéral) et télencéphaliques (cortex, en particulier préfrontal). L'hypothalamus postérolatéral qui contient les neurones à *hypocrétine ou orexine*, joue un rôle majeur dans la veille active, et projette largement sur le cortex, mais aussi sur le thalamus et le tronc cérébral (Haas and Lin, 2012, Szymusiak et al., 2007). De plus, des structures glutamatergiques, cholinergiques et GABAergiques du prosencéphale basal, les noyaux relais glutamatergiques du thalamus, et des systèmes descendants du cortex contribuent aussi à la régulation de l'état de veille (Saper et al., 2010, Lee and Dan, 2012).

### 2.1.2. Le Sommeil lent

- *Comportement*

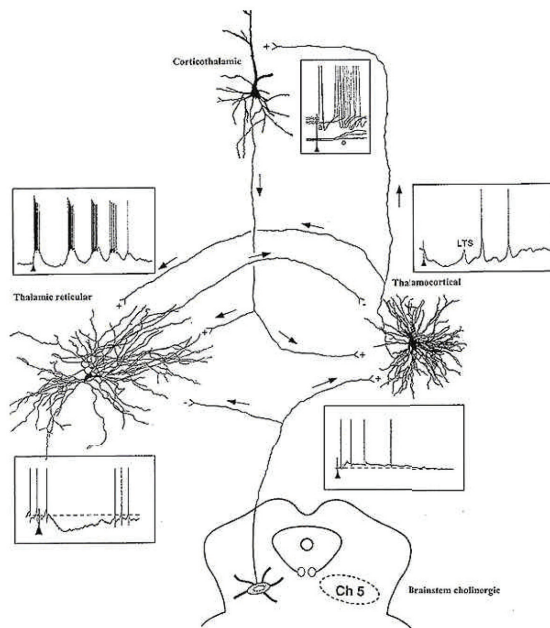
Au cours du sommeil lent, le sujet est détendu, le plus souvent allongé, les yeux fermés, son niveau de perception et ses capacités de réaction aux stimulations extérieures sont altérés. Il est inconscient.

- *Activité électrophysiologique*

L'activité EEG enregistrée chez un sujet en sommeil lent est ample et lente, reflétant la synchronisation des activités de larges populations neuronales. Des oscillations générées par des boucles cortico-thalamiques (ondes lentes delta (1-4Hz) et fuseaux de sommeil sigma (12-14 HZ)) se greffent sur des oscillations plus lentes <1hz générées au sein du cortex. Ces dernières correspondent à l'alternance d'états « UP » (dépolérisation cellulaire associée à des décharges soutenues de potentiels d'action) et « DOWN »

(hyperpolarisation cellulaire avec diminution de l'activité synaptique). Ces deux états synchronisent les autres types d'oscillations au sein de vastes réseaux intra-corticaux et cortico-thalamo-corticaux (Steriade, 2000, Steriade, 2006) (**Figure 1**). L'EMG montre un tonus musculaire faible.

**Figure 1a : boucles thalamo-corticales**



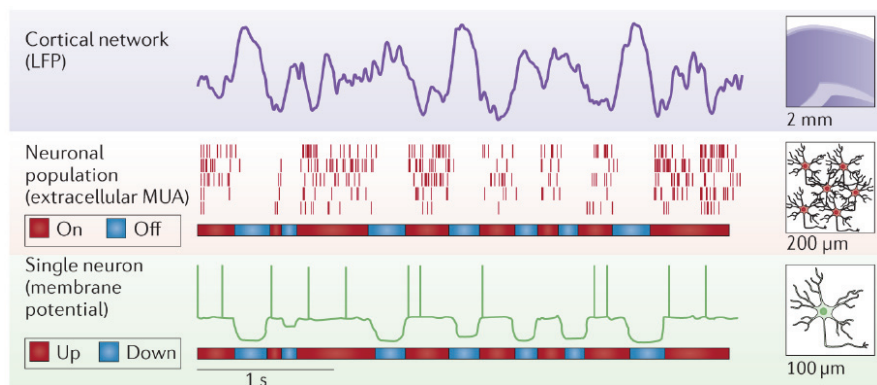
*D'après Steriade, Frontiers in Bioscience, 2003*

**Réseaux thalamo-corticaux impliqués dans les oscillations de l'activité EEG et leur contrôle par les neurones cholinergiques du tronc cérébral.**

Les boucles thalamo-corticales sont composées de neurones thalamiques, réticulaires thalamiques et corticaux fortement interconnectés. En plus des boucles fermées (un neurone cortical est activé par un noyau thalamique sur lequel il projette à son tour), les neurones corticaux peuvent projeter sur d'autres noyaux thalamiques, permettant ainsi la diffusion des activités au delà du site où elles sont générées au sein du cortex. Pendant l'état de veille, les neurones thalamiques ont une activité tonique, alors qu'en sommeil lent, ils déchargent sous forme de bouffées rythmiques de potentiels d'action. Les ondes lentes delta et les fuseaux de sommeil sont générés dans le thalamus, et résultent des propriétés cellulaires et de l'interaction des neurones du noyau réticulaire et des neurones thalamo-corticaux qui synchronisent leur fonctionnement oscillatoire avec le cortex sur lequel ils projettent.

Les boucles thalamo-corticales jouent un rôle dans le maintien de l'état de vigilance globale du cerveau mais aussi dans le contrôle des afférences sensorielles. En effet, le thalamus reçoit également des afférences des systèmes activateurs ascendants du tronc cérébral. Ces projections cholinergiques ascendantes ont un effet différentiel sur les neurones thalamiques réticulaires (hyperpolarisation) et les neurones thalamocorticaux (dépoliarisation). Ces derniers, lorsqu'ils sont hyperpolarisés, comme c'est le cas durant le sommeil lent, seraient susceptibles de bloquer le transfert de l'information au niveau cortical.

**Figure 1b : UP et DOWN states**



Les états actifs et inactifs à l'échelle d'un réseau et d'un neurone. Illustration schématique de l'activité LFP (local field potential) enregistrée dans les couches profondes du cortex chez le rat (trace du haut), et activité unitaire correspondante de 5 neurones enregistrés individuellement (ligne du milieu). Les ondes lentes enregistrées en LFP sont associées à des périodes de silence neuronal (OFF) qui alternent avec des périodes d'activité intense (ON), chacune durant quelques centaines de millisecondes. Le tracé du bas représente schématiquement le potentiel membranaire probable d'un de ces neurones: on peut noter que les ondes lentes (LFP) et les périodes OFF extracellulaires sont associées à une hyperpolarisation (DOWN states) alternant avec des périodes de dépoliarisation (UP states) au cours desquelles l'activité de décharge des neurones augmente.

*D'après Vyazovskiy and Harris, Nat Rev Neurosc, 2013*

- *Imagerie fonctionnelle*

Au cours du sommeil lent profond, la diminution du débit sanguin cérébral est la plus importante dans les régions où davantage de neurones sont impliqués dans les oscillations lentes enregistrées en EEG (hyperpolarisation avec activité phasique en bouffées), et sont considérées comme « désactivées ». Ainsi, le débit sanguin régional est le plus bas dans certaines régions sous corticales (tegmen pontique et mésencéphalique, thalamus, hypothalamus, ganglions de la base, cervelet) et corticales (cortex fronto-basal, fronto-pariétal - en particulier fronto-orbitaire, cingulaire antérieur et précunéus - et mésiotemporal, et dans une moindre mesure cortex occipital et précentral) (Maquet, 2000, Nir and Tononi, 2010) (**Figure 2**).

- *Neurobiologie*

Les neurones hypothalamiques du noyau préoptique ventrolatéral (VLPO : *GABAergique et galaninergique*) et du noyau préoptique médian (*GABAergique*) jouent un rôle crucial dans le maintien du sommeil lent, principalement en inhibant les structures d'éveil du tronc cérébral et de l'hypothalamus, dont ils reçoivent, essentiellement le VLPO, en retour des afférences inhibitrices (Saper et al., 2001). Il est probable que d'autres structures, comme le striatum, le globus pallidus et le cortex, interviennent aussi dans l'installation et/ou le maintien du sommeil lent (Qiu et al., 2010). De plus, d'autres médiateurs comme l'adénosine, le NO (oxyde nitrique), le TNF (tumor necrosis factor) ou encore l'IL1 (interleukine 1) interviennent aussi dans la régulation du sommeil lent (Obal and Krueger, 2003, Krueger et al., 2008).

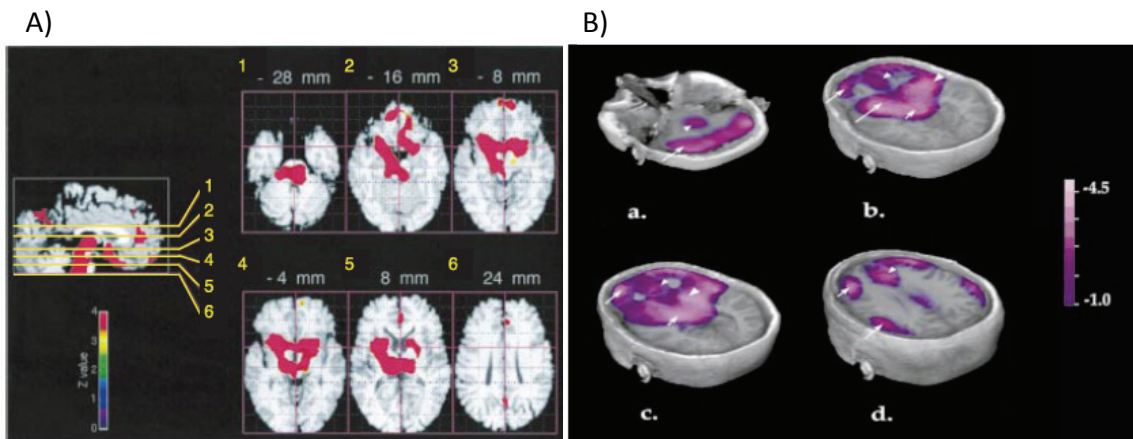
### 2.1.3. Le Sommeil paradoxal

- *Comportement*

Au cours du sommeil paradoxal, le sujet est totalement détendu, son niveau de perception et ses capacités de réaction aux stimulations sont altérés. Il est inconscient. Ses yeux sont fermés mais, sous les paupières, ses globes oculaires présentent des mouvements rapides.

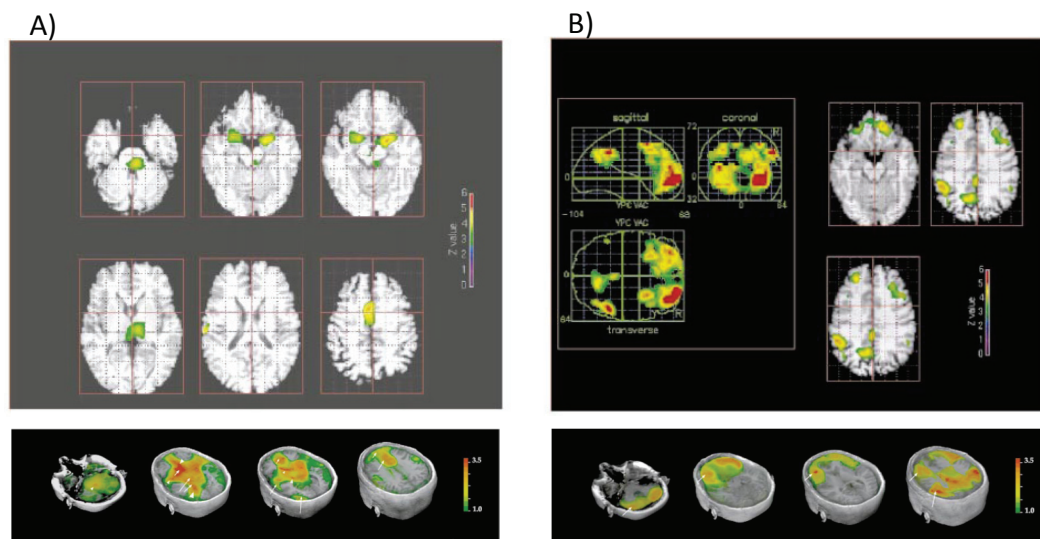


**Figure 2 : imagerie fonctionnelle cérébrale (tomographie par émission de positons) au cours du sommeil lent et du sommeil paradoxal**



**Régions cérébrales dans lesquelles le débit sanguin diminue en sommeil lent profond (coupes transversales):**

- (A) Maquet et al. (1997): contraste ((veille+SP)/2) vs N3: on observe une désactivation au sein du tronc cérébral et du thalamus, des ganglions de la base, des cortex fronto-orbitaire et cingulaire antérieur et du précunéus.
- (B) Braun et al. (1997): contraste veille vs N3: on observe une désactivation du tronc cérébral, du thalamus, des ganglions de la base, du cortex orbito-frontal et du cortex fronto-pariétal dorsolatéral, ainsi que du cervelet et de l'insula.



**Régions cérébrales dans lesquelles le débit sanguin augmente en sommeil paradoxal (coupes transversales):**

- (A) Maquet et al. (1996): contraste {(veille+N3)/2} vs SP : on observe une activation au sein du tegmentum pontique, du thalamus, du cortex cingulaire antérieur et de l'opercule pariétal droit.
- (B) Braun et al. (1997): contraste SP vs N3 : on observe une activation du tronc cérébral, du thalamus, des cortex orbito-frontal, cingulaire antérieur et insulaire ainsi que du cortex occipital latéral et du gyrus parahippocampique.

*D'après Maquet, J Sleep Res, 2000*

- *Activité électrophysiologique*

L'activité EEG enregistrée chez un sujet en sommeil paradoxal est rapide et peu ample, désynchronisée. L'EMG montre un tonus musculaire nul. Alors que l'activité du thalamus et du cortex sont assez comparables en sommeil lent (ondes lentes et fuseaux de sommeil), il existe en sommeil paradoxal une dissociation entre l'activité du thalamus qui présente de nombreux épisodes d'activité lente, de type delta, et l'activité du cortex (fréquences thêta à bêta) (Magnin et al., 2004).

- *Imagerie fonctionnelle*

En sommeil paradoxal, certaines régions sont activées (augmentation du débit sanguin cérébral régional) et d'autres désactivées (diminution du débit sanguin cérébral régional), comparativement à l'état de veille (Maquet, 2000, Nir and Tononi, 2010, Maquet et al., 2004) (**Figure 2**): le tegmentum mésopontin, le thalamus, les structures limbiques et paralimbiques (amygdale, hippocampe, cortex cingulaire antérieur) ainsi que les cortex postérieurs (temporo-occipital) sont activés alors que le cortex fronto-pariétal dorso-latéral est désactivé.

- *Neurobiologie*

Les neurones cholinergiques des noyaux pédiculo-pontin et tegmental latéro-dorsal sont actifs en sommeil paradoxal, et interagissent avec les neurones pontiques monoaminergiques impliqués dans la veille, pour moduler le sommeil paradoxal. Les neurones GABAergiques des noyaux sublatérodorsal et de la région précoeruleus sont actifs en sommeil paradoxal. Ils sont inhibés par (et inhibent) la région de la substance grise périaqueducale et le tegmentum latéro-pontique (GABAergiques aussi). Au sein du noyau sublatérodorsal, des neurones glutamatergiques activent le noyau magnocellulaire du bulbe qui inhibe les motoneurones de la corne antérieure de la moelle (voie glycinergique) ce qui cause l'atonie musculaire. Des neurones glutamatergiques du noyau parabrachial et de la région précoeruleus projettent sur le cortex et sont responsables de la désynchronisation de l'EEG. Enfin, les neurones à MCH (Hormone de Mélanine-Concentration) de l'hypothalamus, entremêlés avec les neurones à hypocretine, semblent promouvoir le SP en inhibant des structures sous corticales et corticales actives au cours de la veille (Saper et al., 2010, Saper et al., 2001, Luppi et al., 2004, Luppi et al., 2012).

## 2.2. Alternance des états de vigilance chez l'Homme

Ainsi, de nombreux systèmes largement distribués sont impliqués de manière différentielle dans l'installation et/ou le maintien de chaque état de vigilance, et rendent compte de la phénoménologie associée à ces états. Ces systèmes interagissent entre eux, le plus souvent sous forme d'inhibition mutuelle, pour réguler l'alternance des états de vigilance (Saper et al., 2010, Lee and Dan, 2012) (*Figure 3*).

### 2.2.1. Veille > Sommeil lent

Les neurones GABAergiques préoptiques ventrolatéral et médian (activés par l'accumulation de substances hypnogènes comme l'adénosine) inhibent les systèmes cholinergiques, monoaminergiques et glutamatergiques promoteurs de l'éveil, permettant ainsi l'entrée en sommeil lent (Saper et al., 2010, Lee and Dan, 2012, Szymusiak and McGinty, 2008).

### 2.2.2. Sommeil lent > Sommeil paradoxal

Les neurones GABAergiques de la substance grise périaqueducule et du tegmentum latéropontin, actifs en sommeil lent et qui inhibaient l'entrée en SP (SP-OFF), sont à leur tour inhibés par les neurones GABAergiques de la région sublatérodorsale (SP-ON), ce qui permet l'entrée en SP. Les neurones noradrénergiques du locus coeruleus et sérotoninergiques du raphé dorsal, actifs à la veille, sont silencieux et cessent d'activer les neurones SP-OFF et d'inhiber les neurones SP-ON. Les neurones cholinergiques des noyaux pédiculo-pontin et tegmental latéro-dorsal sont actifs et ont des effets opposés sur ces 2 populations de neurones. Les neurones SP-ON glutamatergiques du noyau tegmental sublatéro-dorsal du pont chez le rat (équivalent du per-locus coeruleus chez le chat) sont activés par les neurones glutamatergiques de la substance grise périaqueducule. Enfin, les neurones à hypocréatine cessent d'inhiber l'entrée en SP en levant leur inhibition sur les neurones SP-OFF (Saper et al., 2010, Saper et al., 2001, Luppi et al., 2004, Luppi et al., 2012).

**Figure 3 : régulation des états de vigilance**

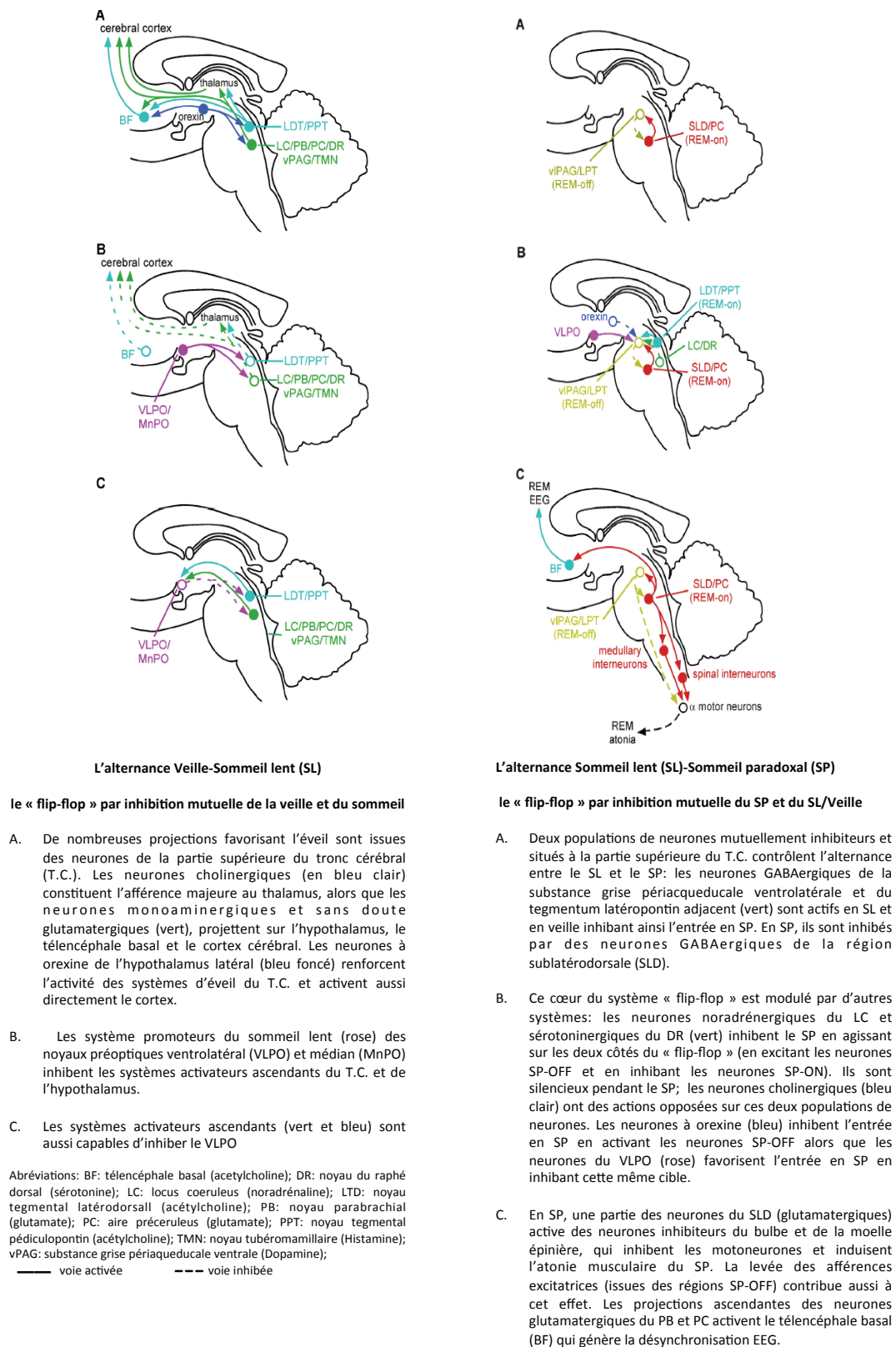


Figure modifiée d'après Saper et al., Neuron 2010

### 2.2.3. Sommeil lent > Veille

Les systèmes cholinergiques, monoaminergiques et glutamatergiques promoteurs de l'éveil inhibent les neurones GABAergiques préoptiques ventrolatéral et médian actifs en sommeil lent (Saper et al., 2010, Lee and Dan, 2012).

### 2.2.4. Sommeil paradoxal > Veille

La transition entre le sommeil paradoxal fait intervenir le locus coeruleus noradrenergique et les neurones à hypocretine, qui inhibent vraisemblablement les systèmes « SP-ON » (Carter et al., 2010, Adamantidis et al., 2007).

## 2.3. Régulation corticale locale des états de vigilance.

Ainsi, de vastes réseaux sous-corticaux interagissent pour réguler de manière globale l'alternance et le maintien des états de vigilance. Cependant, des travaux récents suggèrent que la régulation, notamment homéostatique, du sommeil pourrait aussi faire intervenir des processus locaux intra-corticaux liés à l'activité neuronale (Krueger et al., 2008). En effet, l'étude de l'activité des colonnes corticales montre qu'elles oscillent entre des états fonctionnels différents se traduisant par des modifications des relations input-output. La probabilité pour une colonne d'être « endormie » ou « off » dépend en effet de la durée pendant laquelle cette colonne a préalablement été « réveillée » ou « on », ainsi que de l'intensité de son activité préalable (Rector et al., 2005a, Rector et al., 2005b). De plus, la mise en évidence de populations neuronales « off » chez un animal globalement réveillé, ainsi que l'impact comportemental négatif (performance) pour des tâches impliquant ces populations neuronales, suggèrent que, en dépit de processus de régulation largement distribués et interconnectés, l'état de vigilance « principal » d'un sujet peut faire l'objet de variations fonctionnelles liées à des phénomènes de dissociation locale au sein du cortex (Vyazovskiy et al., 2011).

Au niveau cellulaire, il a été proposé que cette régulation locale liée à l'activité neuronale pourrait faire intervenir la production d'adénosine (substance hypnogène) à partir de l'ATP, et à la production de TNF qui, via les récepteurs NFkB, pourrait moduler l'expression de certains gènes notamment ceux codant pour les récepteurs AMPA

glutamatergiques. Ces processus seraient à même de moduler l'activité neuronale, et permettraient la stabilisation et l'optimisation des réseaux synaptiques (Obal and Krueger, 2003, Hanlon et al., 2011). Au niveau de l'EEG, cette homéostasie synaptique s'exprimerait sous forme d'ondes lentes delta, locales ou globales, même si le rôle exact des ces ondes lentes, biomarqueurs d'homéostasie ou substrat de la régulation homéostatique, reste débattu (Vyazovskiy and Faraguna, 2015, Tononi and Cirelli, 2014, Qiu et al., 2015). Des phénomènes intra-corticaux d'intégration pourraient permettre la synchronisation de l'état (veille/sommeil) de la plupart des colonnes corticales et, ainsi, favoriser l'émergence d'un état global et cohérent de vigilance à l'échelle du cerveau. Cet état global, consolidé et renforcé par les circuits de régulation « classiques » de la vigilance, permettrait de limiter les comportements inadaptés susceptibles de résulter de l'état « off » de certaines populations neuronales corticales (Roy et al., 2008). De plus, compte tenu de la connectivité dense existant au sein des réseaux corticaux, l'état de sommeil global synchronisé au sein de ces réseaux permettrait d'amplifier les phénomènes de « repos » cellulaire en diminuant l'efficacité des afférences au niveau de chaque neurone (Vyazovskiy and Harris, 2013).

***Ainsi, la régulation des états de vigilance résulte probablement de l'intégration par les réseaux sous-corticaux d'une part d'informations corticales locales liées à l'activité neuronale, et d'autre part de paramètres additionnels importants pour déterminer l'état « global » de l'individu, tels que les afférences sensorielles, les émotions, le facteur circadien...***

### **3. Les micro-éveils**

L'état fonctionnel global du cortex peut donc être associé à un état de vigilance principal, objectivable par les enregistrements polysomnographiques (PSG), et qui résulte principalement de l'inhibition réciproque des systèmes promoteurs de la veille et du sommeil. En conditions normales, au cours du sommeil (en général nocturne pour l'homme) ces états de vigilance se succèdent au sein de cycles d'environ 90 minutes comportant du sommeil lent puis du sommeil paradoxal. De brefs réveils de quelques minutes sont possibles au cours des cycles et surtout entre les cycles. Toutefois, une

analyse plus fine du sommeil montre qu'au sein même d'un stade de sommeil, l'activité cérébrale n'est pas stable, et que l'on peut identifier de brèves phases d'activation : les micro-éveils (pour revue, voir Halasz et al., 2004, Bonnet et al., 2007).

### **3.1. Définition(s) des micro-éveils : des phases d'activation transitoire aux ME de l' American Sleep Disorders Association (ASDA)**

Le terme « micro-éveil » (ME) fait référence à l'intrusion d'une brève période de veille, ou au moins à une élévation du niveau de vigilance, au sein du sommeil. Le retour rapide à l'état de sommeil différencie le ME du réveil.

Dès les années 1970, la modulation de la macrostructure du sommeil par des activations brèves et récurrentes a été étudiée ; ainsi, ces phases d'activation transitoire ont été définies par l'association d'une accélération et d'une baisse d'amplitude des rythmes EEG (apparition de fréquences alpha-beta), d'une augmentation du tonus musculaire, d'une augmentation de la fréquence cardiaque et d'une interruption des mouvements oculaires rapides en SP (Schieber et al., 1971)

Par la suite, les travaux de Halasz et al. sur les complexes K et les activations corticales au cours du sommeil de façon plus générale ont souligné la possibilité de modes d'activation différents, constitués pour certains d'ondes lentes, et introduit la notion d'une gradation dans l'intensité de ces événements, les phases d'activation transitoire correspondant à l'activation la plus intense (Halasz et al., 1979, Halasz, 1993, Halasz, 1998).

Malgré un débat quant à la prise en compte ou pas des complexes K et des bouffées d'ondes lentes pour définir les ME, ces deux critères n'ont pas été inclus dans la définition telle qu'adoptée par l'ASDA en 1992 (Hirshkowitz, 2002). Ainsi, l'ASDA définit un ME pendant le sommeil lent comme « une modification rapide de l'EEG, incluant les fréquences thêta ou alpha, ou > 16Hz mais excluant les fuseaux, pouvant être associée à une augmentation du tonus musculaire (EMG) ou à des mouvements, ou à une accélération de la fréquence cardiaque, durant 3 à 15 secondes, et faisant suite à au moins 10 secondes de sommeil stable. En SP, un micro-éveil doit être associé à une reprise d'activité EMG ».



La question du ME cortical versus comportemental (activation musculaire) versus autonome se pose dans cette définition qui prend en compte essentiellement l'activité électrique cérébrale. En effet des réactions d'éveil « partiel » (modification de la fréquence cardiaque/respiratoire, de la pression artérielle, comportement moteur) ont été observées en l'absence d'activation EEG typique suite à des stimulations (Carley et al., 1997, Winkelman, 1999): de tels ME ont été appelés « sous-corticaux » (McNamara et al., 2002). En présence d'une activation sympathique isolée, le terme de ME « autonome » a été proposé (Martin et al., 1997a). Une hiérarchie d'activation semble donc pouvoir être identifiée (Rees et al., 1995, Pitson and Stradling, 1998, Sforza et al., 1999). Enfin, il faut noter qu'avant que la définition consensuelle de l'ASDA soit établie, différentes définitions, incluant des paramètres EEG, EMG, et des critères de durée variables avaient été proposées (Stepanski, 2002).

### **3.2. Physiologie des micro-éveils : interaction entre les micro-éveils et la structure du sommeil**

L'origine des ME est très variable mais on peut distinguer en théorie 2 grands mécanismes susceptibles de les provoquer : 1) une stimulation extero- ou intero-ceptive, et donc ascendante via les structures sous-corticales 2) une activation prenant son origine au sein même du cortex. Suite à l'un de ces deux événements, les systèmes d'éveil sont activés de manière variable.

Les ME ne sont pas répartis de manière homogène dans la nuit ; leur fréquence augmente au fur et à mesure des cycles de sommeil, et est plus élevée lors de la pente ascendante au sein d'un cycle donné (fin de la phase de sommeil lent, transition vers le sommeil paradoxal) que lors de la pente descendante au début d'un cycle (entrée dans un sommeil de plus en plus profond) (Schieber et al., 1971, Halasz et al., 1979, Terzano et al., 2000). De plus, leur fréquence subit des variations ontogénétiques : l'index de ME (nombre de ME par heure) augmente avec l'âge (Boselli et al., 1998, Bonnet and Arand, 2007). Les ME semblent donc entretenir une relation très étroite avec la macrostructure du sommeil dans laquelle ils s'inscrivent. De plus, il est intéressant de noter que, dans des conditions physiologiques, le fait de provoquer des ME par une stimulation au cours du sommeil ne modifie pas le nombre total de ME au cours de la nuit mais diminue le nombre de ME « spontanés ». Ceci constitue un argument indirect en faveur du fait que



les ME font partie intégrante de la structure globale du sommeil (Ehrhart and Muzet, 1974, Halasz et al., 1979, Poyares et al., 2002).

La récurrence d'évènements phasiques comme éléments constitutifs du sommeil a été suggérée par des travaux chez l'enfant, qui ont mis en évidence des activations périodiques au cours du sommeil associées à un éveil sous-cortical et parfois cortical (McNamara et al., 2002). Ce concept d'activations rythmiques endogènes issues du tronc cérébral peut être mis en parallèle avec les ondes ponto-géniculo-occipitales (PGO) du SP, générées spontanément dans le pont, mais qui peuvent aussi être déclenchées par des stimulations auditives à la veille (Kaufman and Morrison, 1981). D'autres fluctuations, d'une périodicité de 20 à 30 secondes, des ondes lentes en sommeil lent ont été observées (un ME toutes les 30 secondes) (Achermann and Borbely, 1997). Cette périodicité pourrait correspondre à un rythme endogène de modulation de l'excitabilité corticale, potentiellement en lien, au cours du sommeil lent, avec des oscillations des systèmes sous-corticaux de veille et de sommeil (Halasz et al., 2004, Oakson and Steriade, 1983), oscillations susceptibles de se traduire également au niveau du système nerveux autonome (Delamont et al., 1999). Le regroupement non aléatoire des « activations corticales » durant certaines phases du sommeil lent a été mis en évidence par Terzano et al., qui ont défini cet élément microstructural du sommeil lent comme étant un Pattern Cyclique Alternant (CAP) (Terzano et al., 1985). Ces auteurs ont décrit au sein du sommeil lent l'alternance de périodes instables (périodes CAP), marquées par la récurrence d'activations corticales, et de périodes stables (périodes non-CAP). Les périodes CAP sont constituées par la répétition de phases d'activation (phases A) séparées par des phases de désactivation (phases B), chacune des phases A et B pouvant durer 2 à 60 secondes (**Figure 4**).

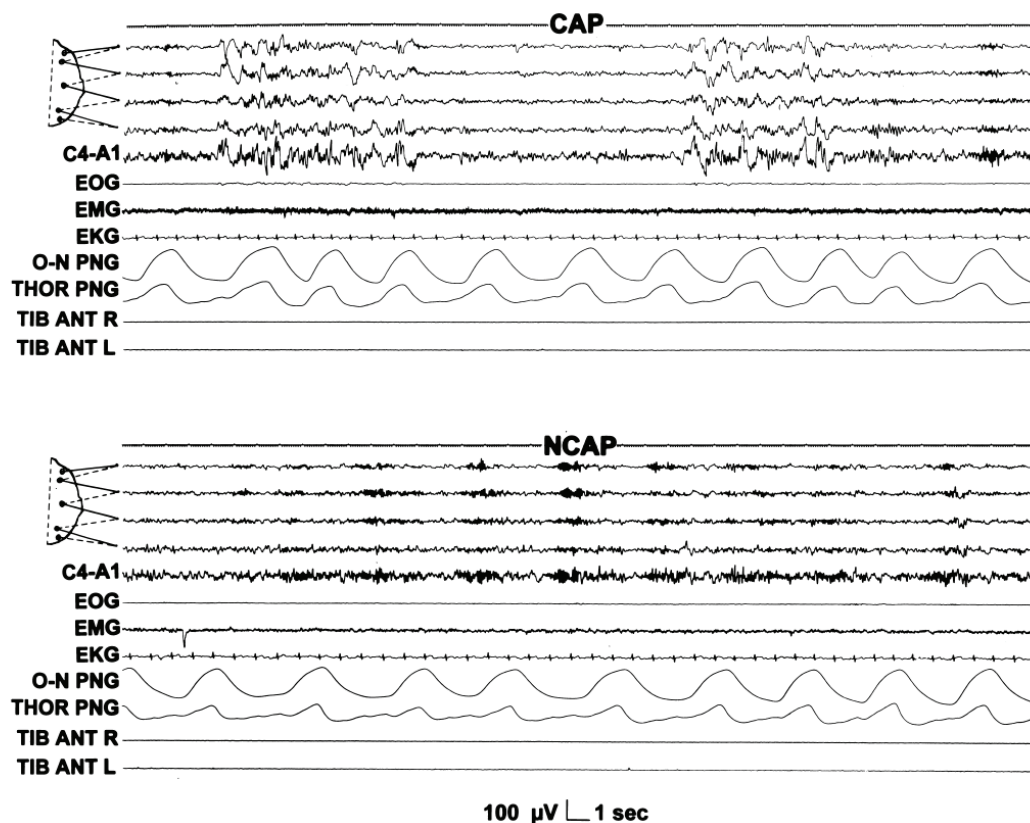
Le CAP a été proposé comme étant un marqueur d'instabilité du sommeil lent (Parrino et al., 2012). Trois sous-types d'activations sont identifiés pour définir le CAP : le sous-type A1 (synchronisation EEG prédominante ; bouffées delta ou séquences de complexes K ou de pointes vertex), le sous-type A2 (association de rythmes lents et rapides) et le sous-type A3 (rythmes rapides de bas voltage prédominants). Il existe une régulation homéostatique et ultradienne de ces phases d'activation : les sous-types A1 prédominent pendant les trois premiers cycles de sommeil et, au sein d'un cycle de sommeil, sont observés préférentiellement dans la pente « descendante », c'est à dire lorsque le sommeil devient plus profond. Les sous-types A2 et A3 prédominent eux en

fin de nuit et durant les stades de SL léger, à la fin des phases de SL avant la survenue du SP lorsque les mécanismes de désynchronisation corticale deviennent plus actifs (Terzano et al., 2005).

Il existe un recouvrement partiel entre la description des phases A et les ME définis par l'ASDA. En effet, la grande majorité (87%) des ME observés en SL surviennent au cours des phases CAP du SL et correspondent essentiellement à des activations A2 et A3. De plus, 95% des activations A3 et 62% des activations A2 remplissent les critères de définition des ME de l'ASDA (Parrino et al., 2001).

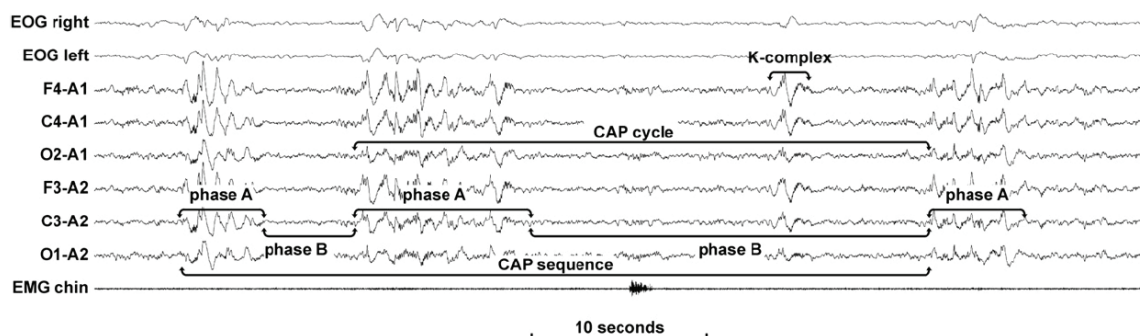
Ainsi, on voit que les ME ne surviennent pas aléatoirement au cours du sommeil, et qu'ils en modulent la structure ; on s'aperçoit aussi à ce stade que les travaux ayant abordé de façon globale la problématique des « activations » au cours du sommeil se sont heurté à la nécessité d'inclure des événements phasiques non pris en compte dans la définition des ME par l'ASDA (Terzano et al., 2002).

**Figure 4 : le pattern cyclique alternant**



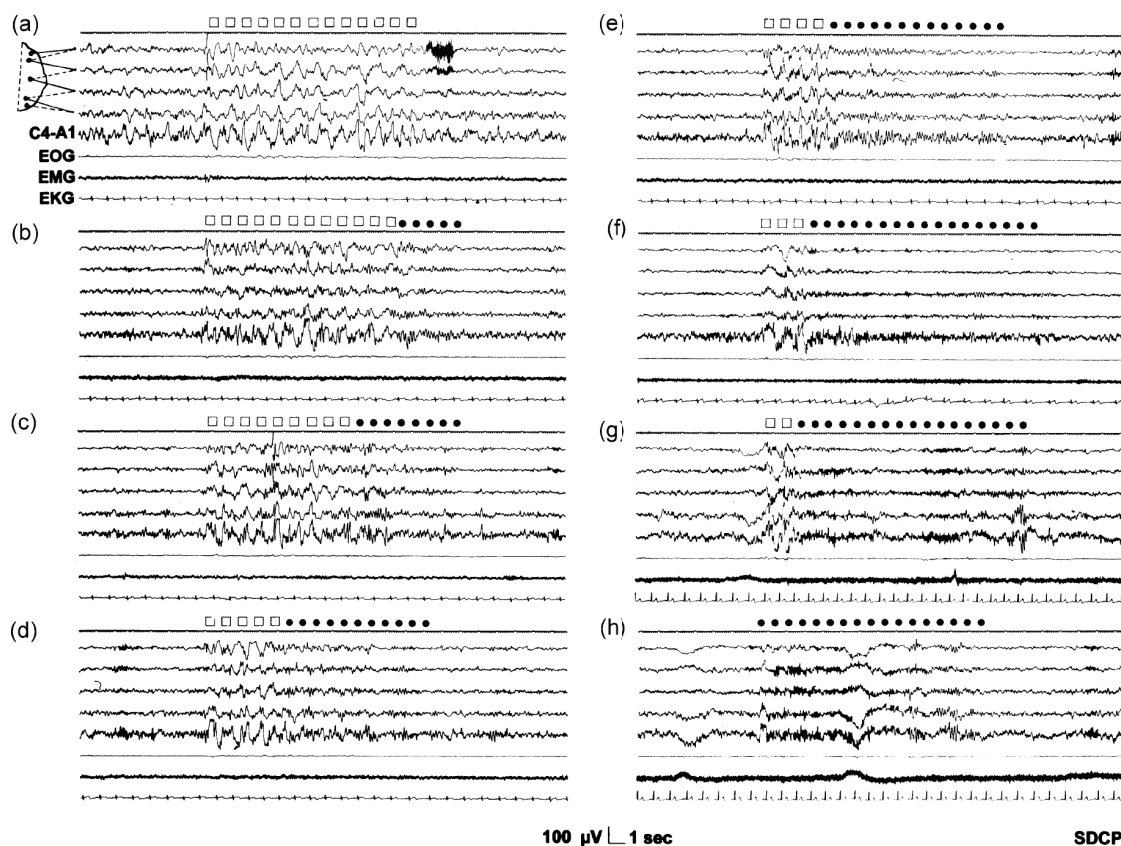
Analyse microstructurale du stade 2: En haut: segment d'une séquence CAP (pattern cyclique alternant) identifiée par la répétition d'activations phasiques sur le rythme EEG de fond; on peut noter que cette séquence CAP n'est pas consécutive à un trouble moteur ou respiratoire. En bas: période NCAP (non-CAP) caractérisée par un rythme de fond EEG homogène; sur ce tracé on observe plusieurs fuseaux de sommeil. EOG: electro-oculogramme; EMG: électromyogramme du muscle sous-mentonnier; EKG: electrocardiogramme; O-N PNG: débit naso-buccal; THOR PNG: mouvements thoraciques; TIB ANT R: EMG du muscle tibial antérieur droit; TIB ANT J: EMG du muscle tibial antérieur gauche

*D'après Parrino et al, Electroencephalogr clin Neurophysiol, 1998*



Un cycle CAP (Pattern Cyclique Alternant) est constitué par la succession de 2 patterns EEG, une phase A (8-12 sec habituellement) et une phase B (16-25sec habituellement). Deux cycles CAP forment une séquence CAP.

*D'après Parrino et al, Sleep Med Rev 2012*



Huit exemples de phase A (mode d'éveil) chez un même sujet, montrant un degré croissant de désynchronisation EEG (ronds noirs) par rapport aux ondes lentes amplies synchrones (carrés blancs). Dans le CAP, (a) et (b) sont classés A1, (c) et (d) sont classés A2 et (e),(f),(g), et (h) sont classés A3.

Les 5 dérivation EEG sont de haut en bas: FP2-F4, F4-C4, C4-P4, P4-O2, C4-A1

*D'après Terzano et al., Sleep Med 2002*

### 3.3. Signification et conséquences des micro-éveils sur le sommeil : le micro-éveil comme marqueur pathologique ou comme élément constitutif du sommeil ?

Les ME sont classiquement considérés comme des facteurs ou des marqueurs de fragmentation du sommeil ; aussi ont-ils été surtout étudiés dans le contexte de pathologies du sommeil, telles que les troubles respiratoires nocturnes (Martin et al., 1997a), les mouvements périodiques des jambes au cours du sommeil (Winkelman, 1999), l'insomnie (Feige et al., 2013), et dans des situations expérimentales, par exemple des ME induits par des stimulations sonores, somesthésiques ou douloureuses (Kato et al., 2004, Drewes et al., 1997). Il est admis que la fragmentation du sommeil liée à la

répétition des ME, même si l'efficacité (rapport entre le temps total de sommeil et le temps passé au lit) et la durée du sommeil sont préservées, exerce un effet délétère sur les fonctions du sommeil (Stepanski et al., 1984, Stepanski et al., 1987, Bonnet and Arand, 2003, Bonnet et al., 2007). L'impact de la répétition des ME s'observe sur les capacités attentionnelles, de concentration, de mémorisation des sujets et peut être associée à une somnolence diurne excessive (Bonnet and Arand, 2003). La fragmentation du sommeil a aussi des effets sur la sécrétion de certaines hormones comme le cortisol (Spath-Schwalbe et al., 1991), sur le métabolisme de l'organisme (Bonnet et al., 1991), et sur l'humeur de l'individu (Bonnet, 1985). Ces conséquences, de même que le phénomène de rebond de sommeil lent profond après une nuit de sommeil fragmenté, sont proches de celles de la privation de sommeil (Bonnet and Arand, 2003). Une diminution de l'index de ME a aussi été rapportée après privation de sommeil, ce qui suggère une régulation homéostatique de la quantité de ME (De Gennaro et al., 2001, Sforza et al., 2004).

Cependant, la corrélation entre index de ME et somnolence n'est pas stricte, ce qui traduit probablement le fait que le déterminisme de la somnolence est multifactoriel (Stepanski, 2002). Il a aussi été avancé que la détection des ME, fondée sur des critères variables de définition en terme de durée des ME et incluant ou non l'EEG, l'EMG, et l'activation autonome, pouvait aussi être sujette à variation de même que la mesure de la somnolence (tests objectifs type MSLT (multiple sleep latency test) ou échelle subjective type ESS (Epworth Sleepiness Scale) (Douglas and Martin, 1996, Martin et al., 1997a). Ainsi, il a été proposé que d'autres mesures, comme la durée de sommeil non perturbé par des ME, pouvaient être associées de façon plus fine à la somnolence que l'index de ME (Aldrich, 1990).

Au total, il apparaît donc que les ME provoqués chez les sujets sains, ou résultant de situations pathologiques comme les apnées du sommeil, ont un effet délétère sur la continuité du sommeil responsable d'une altération fonctionnelle diurne. La définition des ME se doit d'être essentiellement opérationnelle, pour permettre leur détection fiable, reproductible et rapide sur des enregistrements PSG, conduisant à l'identification éventuelle de pathologies susceptibles de justifier d'un traitement (Davies et al., 1997).

Cependant chez les sujets sains un rôle physiologique des ME dans la stabilité du sommeil et dans le maintien d'un lien entre le dormeur et l'environnement a aussi été suggéré et une littérature basée sur des travaux plus fondamentaux apporte des

éléments en faveur du fait que les ME sont un élément constitutif du sommeil (Halasz et al., 2004, Halasz et al., 1979, Schieber et al., 1971, Nicolas, 1997). Cet antagonisme apparent résulte potentiellement du fait qu'il existe vraisemblablement une hétérogénéité au sein des ME et que tous les ME ne sont pas équivalents en terme d'impact sur les fonctions du sommeil.

### **3.4. Etude des micro-éveils par enregistrements intra-cérébraux**

Les ME, physiologiques ou pathologiques, constituent donc des états transitionnels entre sommeil et veille, définis par leur caractère éphémère et le retour rapide à l'état de sommeil ; on peut ainsi considérer qu'ils représentent un compromis entre la possibilité d'une réactivité au cours du sommeil et la nécessité de maintenir un état de vigilance stable, le sommeil. Ils résultent en théorie de l'état préalable du cortex et de la stimulation qui les provoque, ce qui laisse supposer que tous les ME ne sont pas identiques. La possibilité d'une hétérogénéité des ME a été évoquée sur des données de scalp (Halasz et al., 1979, Halasz, 1998, Sforza et al., 2000) et dans une étude intra-cérébrale plus récente de Nobili et al. (Nobili et al., 2011). Ces derniers auteurs ont enregistré au cours du sommeil lent, à l'aide d'électrodes intracérébrales chez des patients épileptiques, des ME locaux avec présence d'une activité rapide n'impliquant que le cortex moteur alors que le cortex frontal dorso-latéral présentait simultanément des ondes lentes, et des ME plus globaux impliquant de façon homogène les cortex étudiés. Ces résultats mettant en évidence des comportements différents de deux types de cortex au cours de ME nous ont poussé à mener une étude basée sur l'analyse d'un échantillonnage plus large d'aires corticales (avec en particulier, les cortex sensorimoteur primaires, associatifs et limbique) en contrôlant l'activité thalamique de façon à disposer d'un marqueur d'activation sous-corticale. Pour étudier les déterminants de l'hétérogénéité des ME, nous avons analysé, en sommeil lent et en sommeil paradoxal, des ME « spontanés », i.e. pour lesquels aucune stimulation n'avait été détectée, et des ME « provoqués » par une stimulation nociceptive. L'objectif de notre étude était de décrire le comportement de différents cortex au cours d'un ME, en fonction du stade de sommeil, du cycle de sommeil et de la stimulation provoquant le ME, ainsi que de comparer le contenu spectral de ces ME à celui de l'état de veille, de manière à situer ces états transitionnels dans le spectre connu des différents états de vigilance (Peter-Derex et al., 2015).

# MATERIELS ET METHODES

## 1. Patients

Nous avons inclus dans l'étude 8 patients souffrant d'épilepsie partielle pharmaco-résistante, le plus souvent temporale, et candidats à un traitement neurochirurgical. Les caractéristiques cliniques des patients sont indiquées dans la **Table 1**. Dans le cadre de l'exploration de leur épilepsie, et afin de localiser au mieux la zone épileptogène susceptible de faire l'objet d'une résection, ces patients ont bénéficié d'enregistrements profonds stéréo-électro-encéphalographiques (S-EEG) à l'aide d'électrodes intracérébrales implantées par le Pr Guénot, neurochirurgien, selon la technique stéréotaxique de Talairach et Bancaud (Bancaud and Talairach, 1973). Le choix des sites anatomiques explorés correspondait aux hypothèses épileptologiques fondées sur l'analyse d'examens non invasifs réalisés avant la S-EEG : évaluation clinique, enregistrement des crises par Video-EEG de scalp, IRM cérébrale, examens d'imagerie fonctionnelle (PET scan FDG, SPECT ictal/interictal) (Guenot et al., 2001, Isnard, 2004). Les régions cérébrales les plus fréquemment explorées étaient les suivantes : structures temporo-limbiques (amygdale, hippocampe), cortex operculaire sensorimoteur, insula, cortex cingulaire, cortex fronto-pariétal dorsolatéral, et thalamus postérieur (en particulier le noyau du pulvinar médian (PuM)). En effet, il a été montré que ce noyau thalamique, de par ses relations fonctionnelles réciproques avec le cortex temporal, pouvait être impliqué dans la propagation des décharges épileptiques temporales (Rosenberg et al., 2006). L'exploration du PuM ne nécessitait pas la mise en place d'une électrode dédiée dans la mesure où il était accessible aux contacts les plus profonds de l'électrode destinée à enregistrer le cortex insulaire postérieur.

Une fois implantées, les électrodes étaient laissées en place au maximum 15 jours. En cours d'hospitalisation, un sevrage, le plus souvent partiel, du traitement médicamenteux anti-épileptique était proposé aux patients de façon à favoriser la survenue des crises épileptiques.



En accord avec la législation française relative aux investigations invasives avec bénéfice individuel direct, les patients étaient clairement informés des procédures et objectifs de l'implantation S-EEG. Le protocole de stimulation laser a été approuvé par le comité éthique local (Comité de Protection des Personnes CPP Léon Berard – Lyon, autorisation N°22236S). Les patients étaient informés du fait que ces stimulations laser étaient réalisées à des fins de recherche et non dans un but diagnostique : ils donnaient par écrit leur consentement à la réalisation du protocole.

Enfin, ce travail a été subventionné en partie par une bourse de Recherche accordée pour l'année 2012 par la Société Française de Recherche et de Médecine du Sommeil.

**Table 1 : caractéristiques des patients**

Patient	Sexe	Age (années)	Traitement anti-épileptique (mg/jour)	Hémisphère	Aires cérébrales sélectionnées pour l'analyse du sommeil	Zone Epileptogène	IRM
1	M	20	Valproate 1500 Levetiracetam 1000 Carbamazépin 400	G	Thalamus, CSP, CMP, AMS, CFDL, CPDL, CCA, CIAS, CIPS, CIAI	Néocortex temporal postérieur gauche	Normale
2	M	19	None	D	Thalamus, CSP, CMP, CFDL, CCA, CIAS, CIPS, CIAI, CIPI	Lobe temporal interne droit	Normale
3	F	37	Carbamazépin 600 Pregabalin 75	G	Thalamus, CMP, CFDL, CPDL, CPM, AMS, CCA, CCP, CIAS, CIPI	Lobe temporal interne gauche	Atrophie de l'hippocampe gauche
4	M	21	Carbamazépin 800 Valproate 500 Clobazam 10	D+G	Thalamus, CPDL, CPM, CCP, CIPI	Cortex fronto-orbitaire gauche	Aspect malformatif diffus
5	F	23	Levetiracetam 2000 Lamotrigine 800	G	Thalamus, CPDL, CCP, CPM	Lobe temporal interne gauche	Atrophie de l'hippocampe gauche et dysplasie occipito-temporale
6	M	26	Carbamazépin 200 Lamotrigine 200 Pregabalin 75	G	Thalamus, CMP, CFDL, AMS, CCA, CIAS, CIAI, CIPI	Lobe temporal interne gauche	Atrophie de l'hippocampe gauche
7	F	51	Oxcarbazépin 600 Clobazam 10	D	Thalamus, CSP, CFDL, CIAS, CIAI	Néocortex temporal droit	Dysplasie temporale droite
8	M	21	Topiramate 200 Oxcarbazépin 900 Lamotrigine 400	D+G	Thalamus, CSP, CMP, CFDL, CPDL, CPM, CCP	Néocortex temporal droit	Polymicrogyrie fronto-temporale droite

## 2. Enregistrements

### 2.1. Procédure de la Stéréo-Electro-Encéphalographie

Les électrodes, d'un diamètre de 0.8 mm, comportaient 5 à 15 contacts d'enregistrements d'une longueur de 2 mm chacun, séparés entre eux par des intervalles



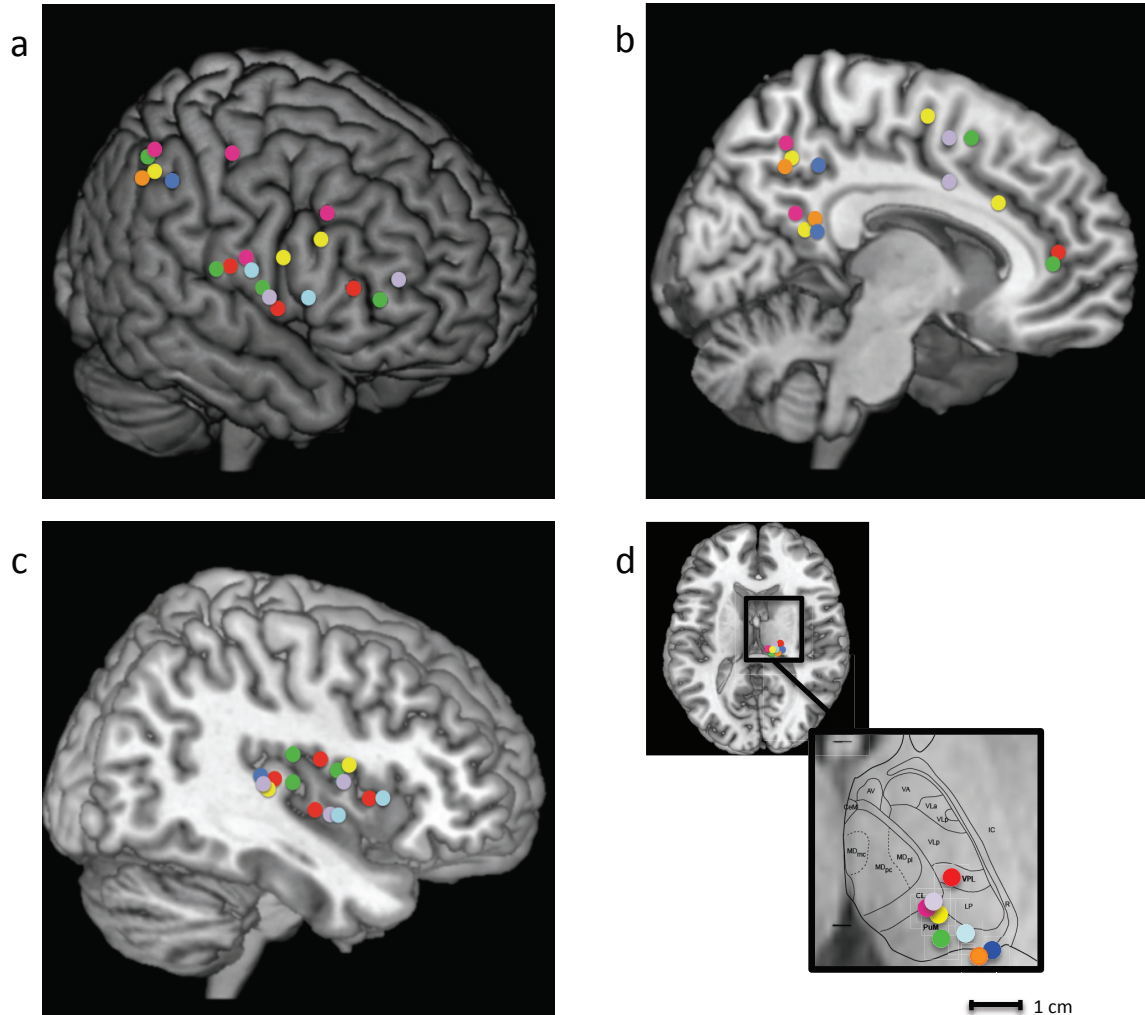
de 1.5 mm (Dixi, Besançon, France). Elles étaient implantées perpendiculairement au plan sagittal à l'aide d'un cadre stéréotaxique selon la procédure décrite initialement par Talairach et Bancaud (Bancaud and Talairach, 1973), et détaillée par Ostrowky et al. (Ostrowsky et al., 2002). Brièvement, les coordonnées des cibles d'intérêt étaient calculées sur l'IRM cérébrale pré-implantatoire du patient. Une artériographie cérébrale était réalisée avant l'intervention et superposée à l'IRM de manière à minimiser le risque de plaie vasculaire en cours de procédure.

## **2.2. Sites anatomiques étudiés**

Après l'intervention, une IRM était réalisée pour les patients les plus récemment explorés (soit 6/8), de façon à contrôler la position des électrodes. Pour les deux autres patients, une radiographie post-implantation, superposée sur l'IRM pré-implantation, permettait de retrouver la position des contacts des électrodes et de préciser les cibles atteintes. Les coordonnées des contacts d'enregistrement étaient alors déterminées grâce au logiciel MRI-Cro®, puis reportées à l'aide d'un algorithme MATLAB® sur le model anatomique de cerveau normalisé proposé par le McConnell Brain Imaging Center of the Montréal Neurological Institute (MNI), McGill University (<http://www.bic.mni.mcgill.ca:brainweb/>). Pour le thalamus, la localisation des contacts a été réalisée grâce à l'Atlas de Morel (Morel et al., 1997).

Pour notre étude, seuls les sites anatomiques n'appartenant pas à la zone épileptogène, et au sein desquels le tracé S-EEG enregistré était libre d'anomalies paroxystiques ont été sélectionnés. Ainsi, les ME ont été analysés dans les régions suivantes, représentées **Figure 5**: le cortex moteur primaire (5 patients) ; le cortex somesthésique primaire (4 patients), le cortex frontal dorsolatéral (le plus souvent aire 44, 45 ou 48 de Broadmann) (6 patients), l'aire motrice supplémentaire (3 patients), le cortex pariétal dorsolatéral (le plus souvent aire 7 ou aire 40) (5 patients), le cortex pariétal médial (aire 7) (4 patients), le cortex cingulaire antérieur (4 patients) et postérieur (4 patients), le cortex insulaire antero-supérieur (5 patients), antero-inférieur (3 patients), postéro-supérieur (2 patients), et postéro-inférieur (5 patients). Dans le thalamus, les noyaux finalement explorés étaient le pulvinar médian chez 5 patients, le noyau centrolatéral chez 2 patients et le noyau ventral postérolatéral chez 1 patient.

**Figure 5 : localisation des plots d'enregistrement**



**Représentation de la localisation des plots d'enregistrement sur l'IRM (MNI) et l'atlas du Thalamus (Morel et coll, 1997).** Chaque couleur correspond à un patient donné (comme indiqué table 1)

- a. Cortex Moteur Primaire (n=5); Cortex somesthésique primaire (n=4); Cortex Frontal Dorso-Latéral (n=6); Cortex Pariétal Dorso-Latéral (n=5).
- b. Cortex Pariétal Médial (n=4); Aire Motrice Supplémentaire (n=3); Cortex Cingulaire Antérieur (n=4); Cortex Cingulaire Postérieur (n=4).
- c. Cortex Insulaire Antéro-Supérieur (n=5); Cortex Insulaire Postéro-Supérieur (n=2); Cortex Insulaire Antéro-Inférieur (n=3); Cortex Insulaire Postéro-Inférieur (n=5).
- d. Noyaux Thalamiques: PuM = Pulvinar Médian (n=5), CL = Central Latéral (n=2), VPL = Ventral Postéro-Latéral (n=1). Les deux lignes horizontales indiquent la position des commissures antérieure et postérieure. D 7.2: plan horizontal situé 7.2 mm dorsalement par rapport au plan horizontal inter-commissural.

### **2.3. Enregistrements nocturnes**

Les patients étaient enregistrés durant une ou plusieurs nuits, dans leur chambre d'hospitalisation, au moins 5 jours après la procédure d'implantation de façon à minimiser la perturbation potentielle du sommeil secondaire à l'inconfort ou à la douleur liée à la présence des électrodes. Durant la nuit, pour la détection des stades de sommeil, les mouvements oculaires étaient enregistrés grâce à des électrodes placées au niveau du canthus droit supéro et infero-latéral. L'électrocardiogramme (ECG) était également enregistré, ainsi que la vidéo. Les signaux S-EEG étaient enregistrés à la fois en mode référentiel et bipolaire, sur un système d'acquisition MICROMED (Treviso, Italie). La fréquence d'échantillonnage était de 256 Hz, la bande passante de 0.53 à 128 Hz, avec une atténuation des filtres de 32dB/octave.

### **2.4. Stimulations laser au cours du sommeil**

Les propriétés éveillantes des stimulations douloureuses ayant déjà été rapportées, nous avons choisi d'étudier les ME secondaires à des stimulations nociceptives induites par un laser (Drewes et al., 1997, Bastuji et al., 2008). Le protocole de stimulation laser est décrit précisément dans l'article de Bastuji et al., 2012 (Bastuji et al., 2012). Brièvement, des stimulations de 5 msec étaient délivrées à l'aide d'une fibre optique sur le dos de la main controlatérale à l'hémisphère principalement exploré. Le seuil nociceptif était fixé au cours d'une série de stimulations durant l'état de veille, comme l'énergie minimale capable de produire une sensation de pique (douleur modérée) pour 2/3 au moins des stimulations. Ce seuil était atteint en général pour des intensités de stimulations situées entre 50 et 79 mJ/mm<sup>2</sup>. Plusieurs séries de stimulations étaient alors délivrées chez chaque sujet, à une intensité stable, fixée au dessus du seuil nociceptif : pendant la veille, le soir avant l'endormissement, au cours du sommeil lent après au moins 20 minutes de sommeil stable, et au cours du sommeil paradoxal. L'identification des stades de sommeil était réalisée en cours de procédure par le Dr H. Bastuji, de façon à pouvoir appliquer les stimulations au cours des états de vigilance choisis. Lorsqu'une stimulation réveillait le patient, la procédure était interrompue jusqu'à ce qu'il se rendorme de façon stable. La plupart des stimulations délivrées en sommeil lent profond provoquaient un allègement du sommeil consécutif ou non à un

ME, raison pour laquelle trop peu de ME provoqués par une stimulation laser en sommeil lent profond ont pu être obtenus pour permettre une analyse.

### 3. Analyse du signal

#### 3.1. Analyse visuelle du sommeil et détection des micro-éveils

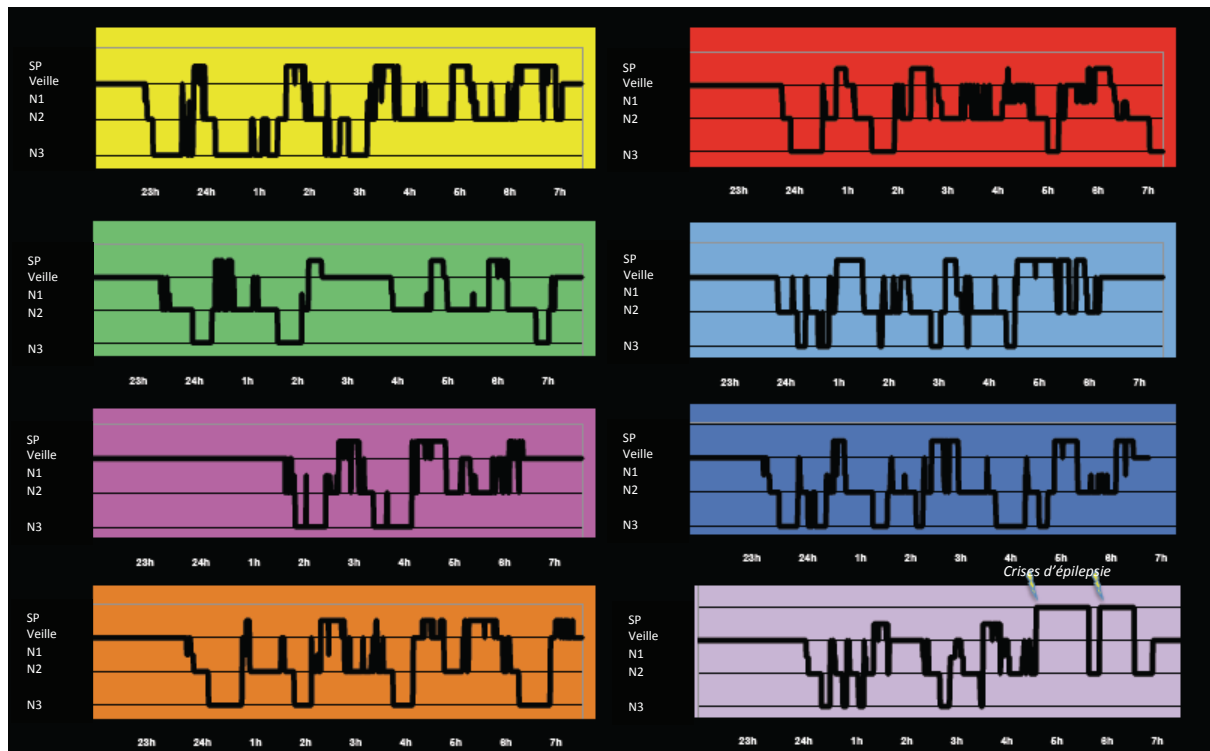
Les nuits enregistrées ont été analysées visuellement par deux médecins habitués à lire des tracés de sommeil obtenus par enregistrement de scalp ou de S-EEG, de façon à construire les hypnogrammes : chaque époque de 30 secondes a été attribuée à un stade de sommeil (N1, N2, N3 ou Sommeil paradoxal), selon les critères de l'American Association of Sleep Medicine adaptés aux enregistrements intracérébraux (Iber C, 2007, Magnin et al., 2004, Rey et al., 2007). Les caractéristiques du sommeil des patients et les hypnogrammes sont détaillées *Figure 6*.

**Figure 6 : caractéristiques du sommeil des patients**

#### 6a. Tableau des caractéristiques du sommeil

	Mean	Std. Deviation
Période totale de sommeil (min)	414,3	60,7
Temps passé au lit (min)	431,3	63,2
Latence d'endormissement (min)	17	13,18
Veille intra-sommeil (min)	45,38	28,81
Temps total de sommeil (TTS, min)	368,9	60,23
Efficacité du sommeil (%)	88,75	6,319
Sommeil lent profond (% TTS)	23	8,177
Sommeil paradoxal (% TTS)	20,38	5,927
Latence du sommeil paradoxal (min)	70,25	10,29

## 6b. Hypnogrammes des huit patients



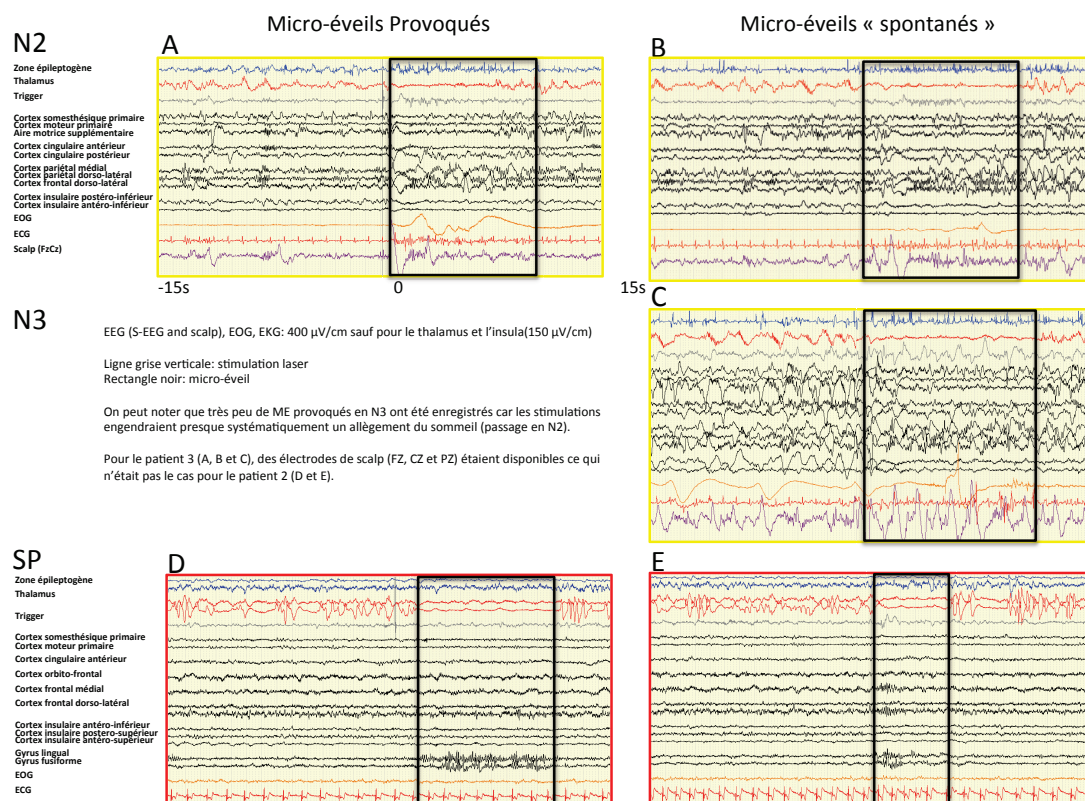
Les ME ont initialement été détectés selon les critères de définition de l'American Sleep Disorders Association, comme des modifications brutales du contenu fréquentiel de l'EEG, vers des fréquences thêta-alpha et ou plus rapides (en faisant exception des fuseaux de sommeil), durant 3 à 15 secondes, et précédées par au moins 10 secondes de sommeil stable.» (1992). Cette définition implique théoriquement, pour les ME en sommeil paradoxal la présence d'une restauration du tonus musculaire. Comme nous ne disposions pas de l'électromyogramme (EMG), notre sélection des ME en sommeil paradoxal était fondée sur une modification indubitable de l'EEG. De plus, au cours de la plupart des ME, un signal EMG était malgré tout capté par les électrodes d'ECG, et la vidéo permettait de repérer un mouvement du patient.

Cette première analyse visuelle nous a permis d'observer que les ME enregistrés dans le cortex étaient éminemment variables, ce qui rendait leur détection parfois difficile et ambiguë, alors qu'ils étaient extrêmement stéréotypés (quels que soient le stade de sommeil considéré et le stimulus à l'origine du ME) et faciles à détecter dans le thalamus. En particulier, en sommeil paradoxal, l'interruption de l'activité lente delta,

décrite dans le thalamus au cours de ce stade (Magnin et al., 2004) était bloquée de façon évidente alors que les modifications d'activité corticale étaient parfois plus subtiles. Pour cette raison, nous avons choisi de retenir pour notre analyse les ME détectés au niveau du thalamus. Ainsi, pour chaque patient, 10 ME ont été sélectionnés dans chaque condition ; 1) en sommeil lent léger: ME provoqués par une stimulations laser (=MEP N2) et ME « spontanés », c'est à dire sans stimulation objectivable (=MES N2), 2) en sommeil lent profond : MES N3, 3) en sommeil paradoxal : MEP SP et MES SP. Des exemples de tracés EEG au cours des ME sont présentés **Figure 7**.

Les critères de sélections des ME, restrictifs notamment du fait de la durée préalable de sommeil stable, ont nécessairement réduit le nombre de MEP analysables (les stimulations laser étant parfois pratiquées de façon rapprochée (période stable < 10 secondes)) à une dizaine environ par état de vigilance. Pour cette raison, et afin d'homogénéiser les comparaisons entre conditions (MES et MEP), nous n'avons sélectionné que 10 MES dans chaque stade pour chaque patient. Ainsi, au maximum, 50 ME étaient sélectionnés chez chaque patient.

**Figure 7 : exemples de micro-éveils**





### 3.2. Analyse spectrale

Les portions de tracé S-EEG comportant les ME sélectionnés ont été extraites sous forme de fichiers MICROMED® (TRC). Ces fichiers ont été ensuite segmentés en époques de 30 secondes exactement, centrés sur la stimulation (pour les MEP) ou sur le début visuellement détecté du ME pour les MES (logiciel BRAIN ANALYSER®).

\* Une analyse spectrale en ondelettes a alors été effectuée sur ces tracés EEG en utilisant une transformée en ondelette entre 0.5 et 30Hz (résolution fréquentielle = 0.5 Hz, pas = 1 secondes,  $\omega$  (fréquence moyenne de l'ondelette mère) = 5 Hz ;  $\sigma$  (largeur de l'enveloppe Gaussienne utilisée pour localisée la fonction d'ondelette dans le temps) = 0.15 sec) (logiciel LETSWAVE®). La puissance spectrale moyenne a été calculée durant chaque seconde dans chaque bande de fréquence (BF) d'intérêt : delta [0.5-4 Hz], thêta + alpha [4.5-10.5 Hz], sigma [11-15 Hz] and beta [15.5-30 Hz]. Ces bandes de fréquence ont été déterminées ainsi pour les raisons suivantes:

- 1) Le delta représente l'activité caractéristique du sommeil lent dans le cortex et le thalamus, et celle du sommeil paradoxal dans le thalamus: des variations dans cette BF étaient donc attendues au cours des ME.
- 2) La décision de réunir les bandes thêta et alpha avait pour objectif de mettre en évidence des réactions d'éveil dans les régions corticales où l'alpha est prédominant lors de la veille calme: en effet il a été montré qu'au moment du réveil, comme lors de l'endormissement, le rythme alpha se ralentit et se rapproche du thêta (Marzano et al., 2013, Ferrara et al., 2006). De plus, des réactions alpha lors des éveils en sommeil paradoxal ont été rapportées (Cantero and Atienza, 2000).
- 3) La bande sigma a été individualisée afin de suivre l'activité des fuseaux de sommeil au cours des ME en sommeil lent.
- 4) Enfin, la bande beta a été isolée de manière à mettre en évidence des activités rapides de veille dans des cortex où l'alpha est souvent moins visible (régions antérieures)

\*Au sein des époques de 30 secondes incluant les ME, des fenêtres temporelles d'analyse ont été définies de manière à identifier des modifications relatives des puissances spectrales dans les BF d'intérêt au cours des ME en comparaison avec la ligne de base définie comme la période de sommeil précédant le ME (**Figure 8**).

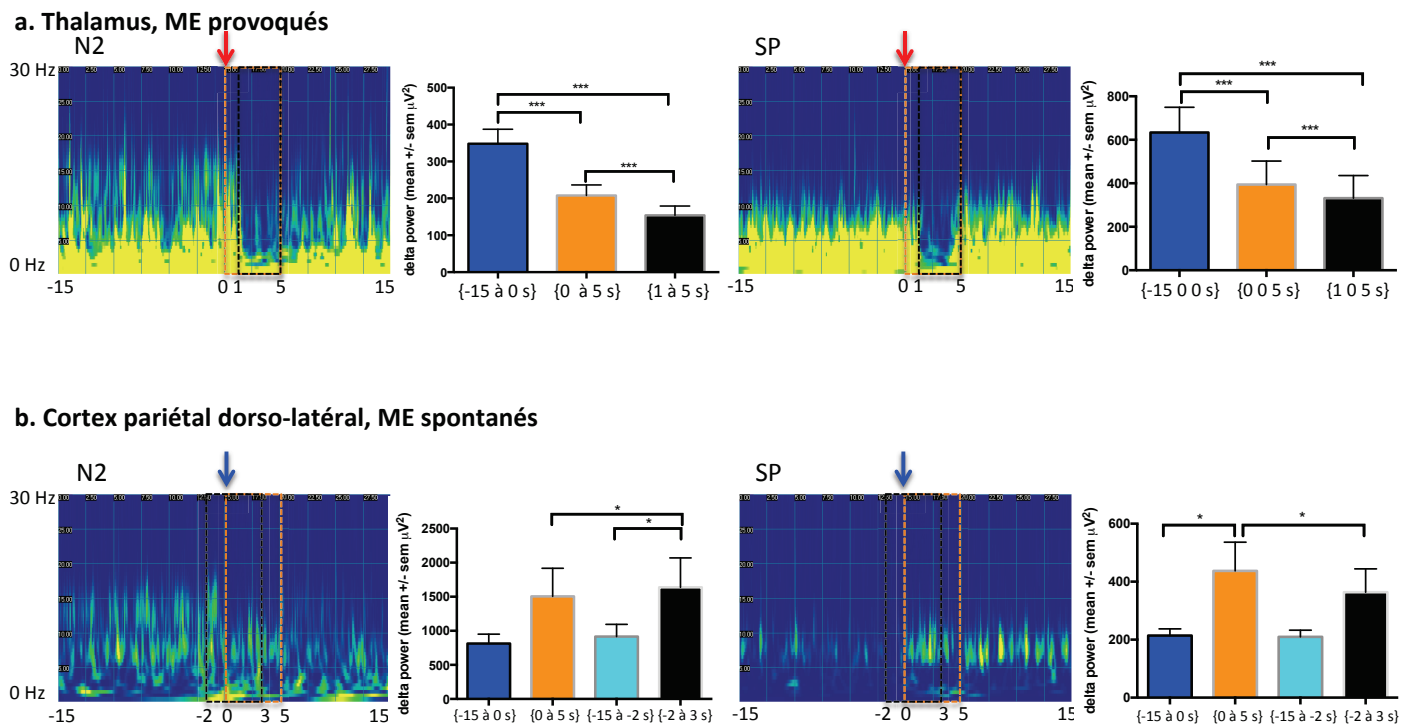
- Pour les MEP: afin d'étudier la puissance spectrale pendant au moins les 3 premières secondes du ME (ce qui correspond à la durée minimale des ME), et compte tenu de la latence de survenue des ME après les stimulations laser ( $1 \pm 0.5$  s (moyenne  $\pm$  déviation standard) en SLL et  $0.9 \pm 0.4$  s en SP), nous avons défini la fenêtre d'analyse comme la période débutant 1 seconde après la stimulation et finissant 5 secondes après celle-ci (soit l'intervalle MEP N2 et SP [1; 5sec]). Cette seconde de décalage après la stimulation permettait d'éviter d'inclure un tracé sommeil persistant dans la fenêtre d'analyse « MEP ». La ligne de base (LB) était définie par les 15 secondes précédant la stimulation (intervalle LB-MEP-N2 et LP-MEP-SP [-15; 0sec]).

Pour les MES: la période d'analyse des MES a d'abord été fixée aux 5 secondes suivant le début visuellement détecté du ME thalamique et la ligne de base au 15 secondes précédant ce dernier. Cependant, l'analyse visuelle des MES au cours du SL dans la plupart des cortex a montré qu'une réaction à ondes lente, précoce, pouvait précéder le ME thalamique d'une à deux secondes. La présence d'une modification de la composition spectrale de l'EEG précédant l'éveil cortical (« pré-éveil ») 2 s avant le début de celui-ci et associée à des ondes lentes sur l'EEG de scalp et à une activation précoce du système nerveux autonome (accélération de la fréquence cardiaque) avait déjà été rapportée (Sforza et al., 2000). De plus, une asynchronie des réaction d'éveil avait aussi été observée entre structures corticales (réaction à ondes lentes dans le cortex préfrontal dorso-latéral précédant l'activation du cortex moteur) (Nobili et al., 2011). La fenêtre d'analyse précédemment définie ne permettant pas de prendre en compte ce phénomène, nous avons décidé de choisir une autre fenêtre débutant 2 secondes avant le ME thalamique et finissant 3 secondes après (intervalle MES-N2 ou N3 [-2; 3sec]). La ligne de base a alors été définie par l'activité durant les 13 secondes précédentes (intervalle LB-MES-N2 ou N3: [-15; -2sec]). Cette observation n'étant pas confirmée en SP, nous avons conservé pour ce stade les intervalles MES-SP [0; 5sec] et LB-MES-SP [-15; 0sec]).

- Enfin, afin de comparer le signal au cours des ME et de l'état de veille, nous avons défini également une fenêtre d'analyse du signal pour les stimulations effectuées à l'état de veille avant la nuit étudiée, durant les 5 secondes suivant chaque stimulation. Ce choix permettait d'avoir un état de veille « active ».



**Figure 8 : choix de la fenêtre temporelle d'analyse des micro-éveils**



**Fenêtre temporelle pour l'analyse des ME:** chaque représentation temps-fréquence (TF) est une grande moyenne des analyses TF de 8 patients dans le thalamus et de 5 patients dans le CPDL ( $n \leq 10$  ME/patient pour chaque site)

- Représentations TF de ME provoqués par des stimulations nociceptives, enregistrés dans le thalamus en N2 (à gauche) et en SP (à droite) (flèche rouge= stimulations laser). Dans les deux stades de sommeil, la puissance delta est significativement plus élevée durant la fenêtre [0 ; 5 s] (orange), qui inclut 1 seconde de sommeil que durant la fenêtre [1 ; 5 s] (noire) (Wilcoxon,  $p < 0.0005$ ).
- Représentations TF de ME spontanés dans le CPDL. La puissance delta est significativement plus élevée pendant la fenêtre [-2 ; 3 s] (noire) que durant la fenêtre [0 ; 5 s] qui n'inclut pas la réaction à ondes lentes précoce (Wilcoxon,  $p < 0.05$ ). En SP, les ME dans le thalamus et dans le CPDL sont synchrones et la fenêtre [-2 ; 3 s] ne démasque pas de modification précoce du signal.

### 3.3. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel GRAPHPAD PRISM®. Les résultats étaient considérés comme statistiquement significatifs pour des valeurs de  $p < 0.05$ .

- Comparaison des puissances spectrales : les puissances spectrales dans chaque site anatomique étudié, pour chaque BF d'intérêt et durant les fenêtres d'analyse définies précédemment (ligne de base et ME) dans les deux conditions (MES et MEP) ont d'abord été déterminées avec le logiciel LETSWAVE®. Ces valeurs ont ensuite été normalisées chez chaque patient, pour chaque site anatomique étudié, au sein de chaque BF, à travers les 12 états étudiés (Veille pré-stimulation, veille post-stimulation, LB-MES-N2, MES-N2, LB-MEP-N2, MEP-N2, LB-MES-N3, MES-N3, LB-MES-SP, MES-SP, LB-MEP-SP, MEP-SP) : la valeur de puissance la plus élevée pour une BF donnée à travers ces différents états correspondait à 100%.

Ainsi, les données des différents patients ont pu être regroupées afin d'être analysées conjointement, pour un site anatomique et une BF donnée. Ces valeurs ont ensuite subi une transformation logarithmique ( $Y'=\log(Y+1)$ ) afin de rendre les distributions normales et de pouvoir utiliser des tests paramétriques (ANOVA).

- les comparaisons LB versus ME dans chaque état (NE, N3, SP) ont été réalisées pour chaque site anatomique avec des ANOVA à mesures répétées à deux facteurs (facteur 1 : bande de fréquence (delta/thêta-alpha/sigma/beta), facteur 2 : temps (LB/ME)).
- les comparaisons entre les MES et les MEP ont été réalisées en N2 et en SP à avec des ANOVA à mesures répétées à deux facteurs (facteur 1 : bande de fréquence (delta/thêta-alpha/sigma/beta), facteur 2 : condition (LB-MES/LB-MEP)). La soustraction LB-ME avait pour objectif de s'affranchir d'éventuelles variations de la ligne de base.
- les comparaisons entre les ME et l'état de veille ont été réalisées pour les ME survenant pendant le N2 et le SP avec des ANOVA à mesures répétées à deux facteurs (facteur 1 : bande de fréquence (delta/thêta-alpha/sigma/beta), facteur 2 : état (veille post-stimulation, MES-N2/MES-N3/MES-SP).
- Les corrections de Sidak et Tukey pour les comparaisons multiples ont été appliquées.
- Durée des ME : Nous avons mesuré visuellement la durée (en secondes) de chaque ME thalamique sélectionné sur le tracé EEG. Nous avons ensuite comparé la durée des ME en SL et en SP avec un test de Mann-Whitney.
- Effet du cycle de sommeil au cours duquel surviennent les ME sélectionnés en sommeil lent sur la puissance delta : le cycle de sommeil pendant lequel est survenu chaque ME a été déterminé à l'aide des hypnogrammes réalisés. Les ME d'un même cycle ont pu ainsi être étudiés pour chaque site enregistré, et grâce à la normalisation réalisée précédemment, la puissance delta moyenne des ME a pu être calculée pour chaque cycle chez l'ensemble des patients. Une corrélation entre la position (de 1 à 4) du cycle de sommeil au sein de la nuit et la puissance moyenne de l'activité delta a pu être évaluée (régression linéaire). Pour finir, la relation entre la puissance delta avant et pendant le ME a été étudiée, en prenant en compte l'ensemble des ME individuellement sélectionnés (régression linéaire).

# RESULTATS

Nous avons analysé 351 ME, 206 en sommeil lent (63 MEP en N2, 79 MES en N2, et 64 MES en N3) et 145 en sommeil paradoxal (65 MEP et 80 MES). Les caractéristiques des modification spectrales de l'EEG au cours de ces ME ont été étudiées à la fois dans le thalamus et le cortex. Celles-ci s'avérant hétérogènes dans le cortex, nous avons analysé les déterminants potentiels de cette hétérogénéité: le facteur déclenchant du ME (trigger), la durée des ME et l'impact du facteur homéostatique sur la composante lente delta au cours des ME. Nous avons ensuite comparé l'activité S-EEG au cours des ME avec celle de l'état de veille afin de déterminer si les ME pouvaient être considérés comme une intrusion de veille au cours du sommeil, comme des états intermédiaires entre veille et sommeil, ou comme des états différents à part entière.

Des exemples de ME en sommeil lent et en sommeil paradoxal sont représentés **Figure 7**.

## 1. Les différents modes d'activation dans le thalamus et le cortex

### 1.1. Le thalamus

Dans le thalamus, nous avons observé que les modifications de la composition spectrale du signal au cours des ME étaient stéréotypées, chez un même patient et d'un patient à l'autre. Les ANOVA à mesures répétées à deux facteurs (temps et bandes de fréquence) ont montré les résultats suivants (**Figure 9**) :

\*En sommeil lent léger comme en sommeil lent profond, la puissance spectrale du signal dans chacune des bandes de fréquences étudiées diminue significativement au cours des ME.

- En sommeil lent N2, pour les MES, il existe un effet significatif du facteur «temps», c'est à dire avant versus pendant le MES: ( $F(1, 79) = 273.3$   $p <$

0.0001) et du facteur « bande de fréquence (BF) » ( $F(3, 237) = 12.65$ ,  $p < 0.0001$ ) avec une interaction ( $F(3, 237) = 11.53$ ,  $p < 0.0001$ ); les analyses post-hoc montrent une diminution significative de la puissance dans toutes les BF pendant les MES,  $p < 0.0001$ .

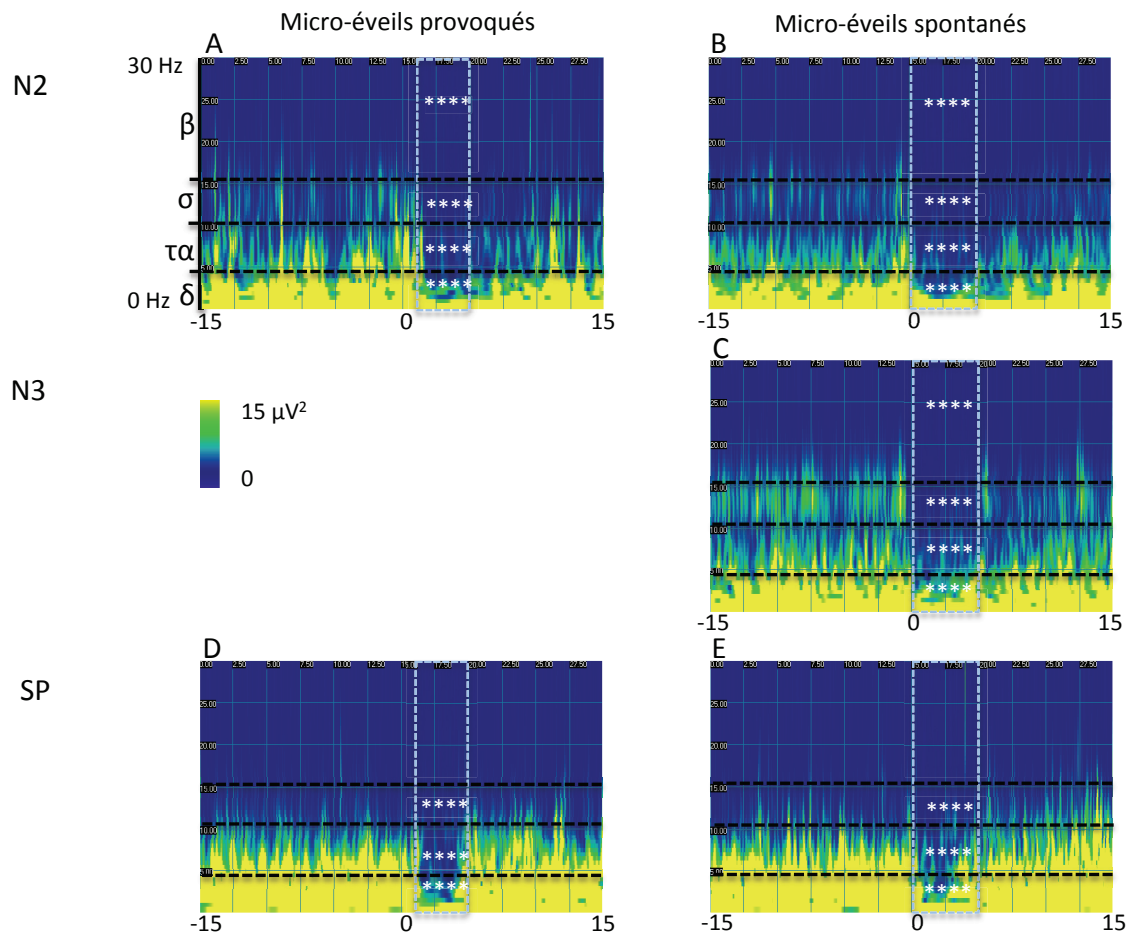
En sommeil lent N2, pour les MEP, on trouve un effet temps ( $F(1, 63) = 77.94$ ,  $p < 0.0001$ ) et un effet BF ( $F(3, 189) = 8.475$ ,  $p < 0.0001$ ) avec une interaction ( $F(3, 189) = 12.36$ ,  $p < 0.0001$ ); en analyse post-hoc il existe une diminution significative de la puissance dans toutes les BF pendant les MEP,  $p < 0.0001$ .

- En sommeil lent N3, pour les MES : on observe un effet temps ( $F(1, 63) = 218.5$ ,  $p < 0.0001$ ) et un effet BF ( $F(3, 189) = 13.09$ ,  $p = 0.0001$ ) avec une interaction ( $F(3, 189) = 17.02$ ,  $p < 0.0001$ ); en analyse post-hoc il existe une diminution significative de la puissance dans toutes les BF pendant les MES,  $p < 0.0001$ .

\*En sommeil paradoxal, la puissance spectrale du signal diminue pendant les ME, mais seulement dans les BF de delta à sigma. Il est important de noter que l'activité sigma en sommeil paradoxal ne fait pas référence aux fuseaux de sommeil qui ne sont pas présents pendant ce stade de vigilance, mais à la bande de fréquence 11.5-15 Hz faisant partie du beta comme défini généralement pendant l'éveil.

- Pour les MES, on observe un effet temps ( $F(1, 79) = 91.43$ ,  $p < 0.0001$ ) et un effet BF ( $F(3, 237) = 60.74$ ,  $p < 0.0001$ ) avec une interaction ( $F(3, 237) = 84.62$ ,  $p < 0.0001$ ); les analyses post-hoc montrent une diminution significative de la puissance delta à sigma pendant les MES,  $p < 0.0001$ .
- Pour les MEP, on trouve un effet temps ( $F(1, 65) = 66.99$ ,  $p < 0.0001$ ) et BF ( $F(3, 195) = 32.81$ ,  $p < 0.0001$ ) avec une interaction ( $F(3, 195) = 87.61$ ,  $p < 0.0001$ ); en analyse post-hoc il existe une diminution significative de la puissance delta à sigma pendant les MEP,  $p < 0.0001$ .

**Figure 9 : représentations temps-fréquence des micro-éveils dans le thalamus**



**Représentations Temps Fréquence (TF) de l'activité thalamique au cours des micro-éveils:**

Les ME sont caractérisés par une diminution significative de la puissance du signal dans toutes les bandes de fréquence considérées en SL (N2 et N3), et dans les BF delta, thêta-alpha et sigma en SP (ANOVA à deux facteurs, analyses post-hoc, les étoiles blanches indiquent une diminution significative  $p < 0.0001$  \*\*\*)

- A. ME induits par les stimulations nociceptives en N2
- B. ME spontanés en N2
- C. ME spontanés en N3
- D. ME induits par les stimulations nociceptives en SP
- E. ME spontanés en SP

Chaque représentation TF est une grande moyenne des analyses TF des huit patients ( $n \leq 10$  pour chaque patient dans chaque condition A à E).

La fenêtre temporelle d'analyse est représentée au sein du rectangle en pointillé bleu clair (ME spontanés [0; +5 sec] et ME provoqués [+ 1; +5 sec] ). La ligne de base correspond au signal qui précède.

## 1.2. Le cortex

Dans le cortex, nous avons observé que les modifications de la composition spectrale du signal EEG au cours des ME étaient très variables, y compris au sein d'une structure anatomique donnée et au cours d'un même stade et d'un même cycle de sommeil. Les résultats des ANOVA à mesures répétées à deux facteurs sont présentés dans les **Tables 2 à 5**.

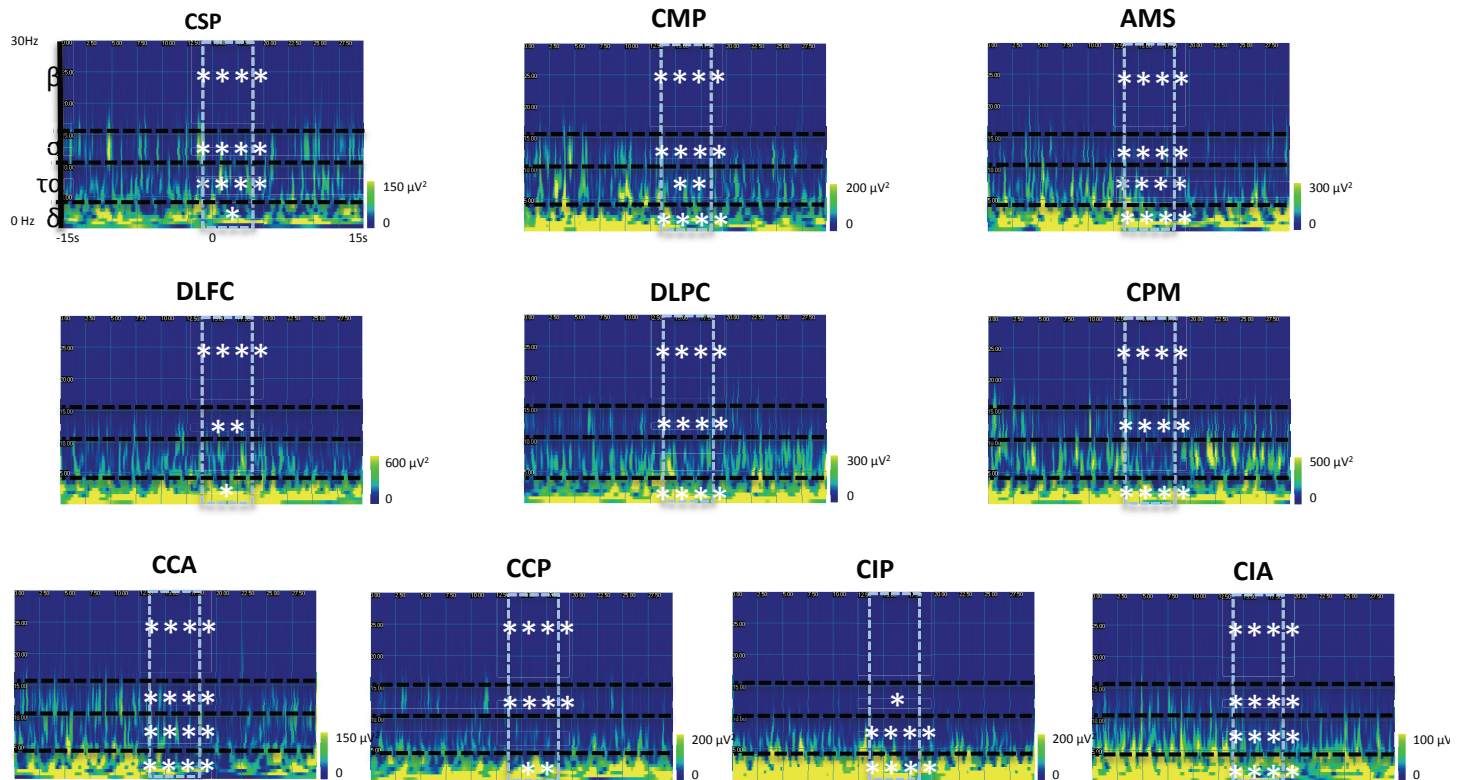
\* Modes d'activation corticale au cours des ME en sommeil lent

En sommeil lent N3, quel que soit le site anatomique considéré, les modifications du signal les plus fréquentes sont une diminution de la puissance des ondes lentes delta et un blocage des fuseaux de sommeil (**Figure 10 et Table 2**). Toutefois dans les cortex associatifs, en particulier le cortex frontal dorso-latéral, dans 40% des cas, cette diminution est soit absente (**Figure 11** : ME considérés comme « locaux »), soit remplacée par une augmentation paradoxale des ondes lentes (réaction d'éveil à ondes lentes hyper-synchrones) (**Figure 12**).

**Table 2 : résultats des analyses statistiques (ANOVA à deux facteurs) pour les micro-éveils en N3 dans le cortex**

ME (spontanés) en SL N3							
	Résultats des ANOVA			Analyses Post-hoc (p et direction de la variation)			
	Effet Temps	Effet Bande de Fréquence	Interaction	delta	thêta-alpha	sigma	beta
CSP	F (1, 25) = 33.52; p<0.0001	F (3, 75) = 59.86; p<0.0001	F (3, 75) = 2.74; NS	0,0138 ↓	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓
CMP	F (1, 37) = 17.22; p=0.0002	F (3, 111) = 42.57; p<0.0001	F (3, 111) = 1.248; NS	<0,0001 ↓	0,0018 ↓	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓
AMS	F (1, 27) = 86.38; p<0.0001	F (3, 81) = 13.21; p<0.0001	F (3, 81) = 2.826; p=0.0438	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓
CFDL	F (1, 43) = 14.22; p=0.0005	F (3, 129) = 55.89; p<0.0001	F (3, 129) = 5.575; p=0.0013	0,0446 ↓	NS	0,0063 ↓	<0,0001 ↓
CPDL	F (1, 49) = 16.50; p=0.0002	F (3, 147) = 11.81; p<0.0001	F (3, 147) = 3.385; p=0.0199	<0,0001 ↓	NS	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓
CPM	F (1, 49) = 13.99; p=0.0005	F (3, 147) = 7.903; p<0.0001	F (3, 147) = 2.604; NS	<0,0001 ↓	NS	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓
CCA	F (1, 27) = 51.14; p<0.0001	F (3, 81) = 6.258; p=0.0007	F (3, 81) = 4.962; p=0.0033	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓
CCP	F (1, 39) = 16.80; p=0.0002	F (3, 117) = 40.33; p<0.0001	F (3, 117) = 2.575; NS	0,0017 ↓	NS	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓
CIP	F (1, 37) = 31.61; p<0.0001	F (3, 111) = 1.897; NS	F (3, 111) = 18.53; p<0.0001	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓	0,0438 ↓	NS
CIA	F (1, 41) = 27.78; p<0.0001	F (3, 123) = 38.88; p<0.0001	F (3, 123) = 1.669; NS	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓

**Figure 10 : représentation temps-fréquence des micro-éveils en N3 dans le cortex**



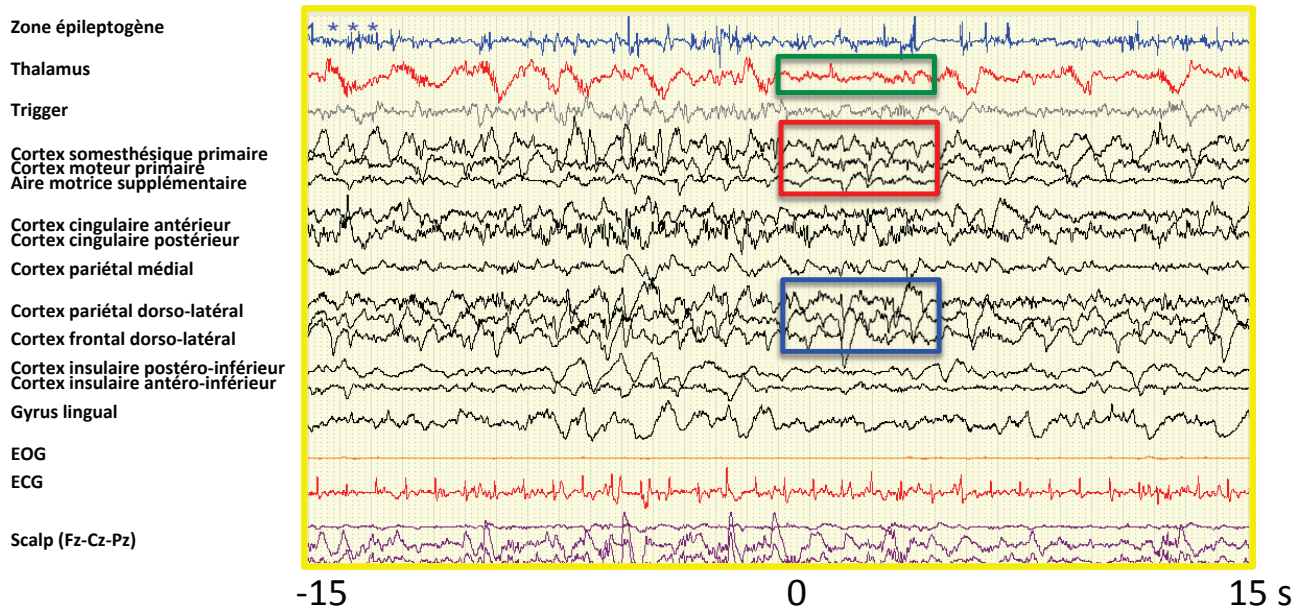
Chaque diagramme TF représente une grande moyenne des analyses TF de N patients (nombre de patients ayant une électrode dans le site cortical étudié: voir Figure 5) ( $n \leq 10$  ME par patient pour chaque site). Comme les cortex insulaires postéro-supérieur et postéro-inférieur se comportaient de la même manière, leurs données ont été rassemblées (CIP: cortex insulaire postérieur). De même, les résultats des cortex insulaire antéro-supérieur et antéro-inférieur ont été rassemblés (CIA: cortex insulaire antérieur).

Les astérisques blancs signifient une diminution significative de la puissance du signal dans la bande de fréquence considérée,  $p < 0.05$  \* à  $p < 0.00001$  \*\*\*\* (ANOVA à deux facteurs).

La fenêtre temporelle d'analyse correspond au rectangle en traits pointillés bleu ciel (ME spontanés: [-2; +3 sec]) et la ligne de base au signal qui précède.

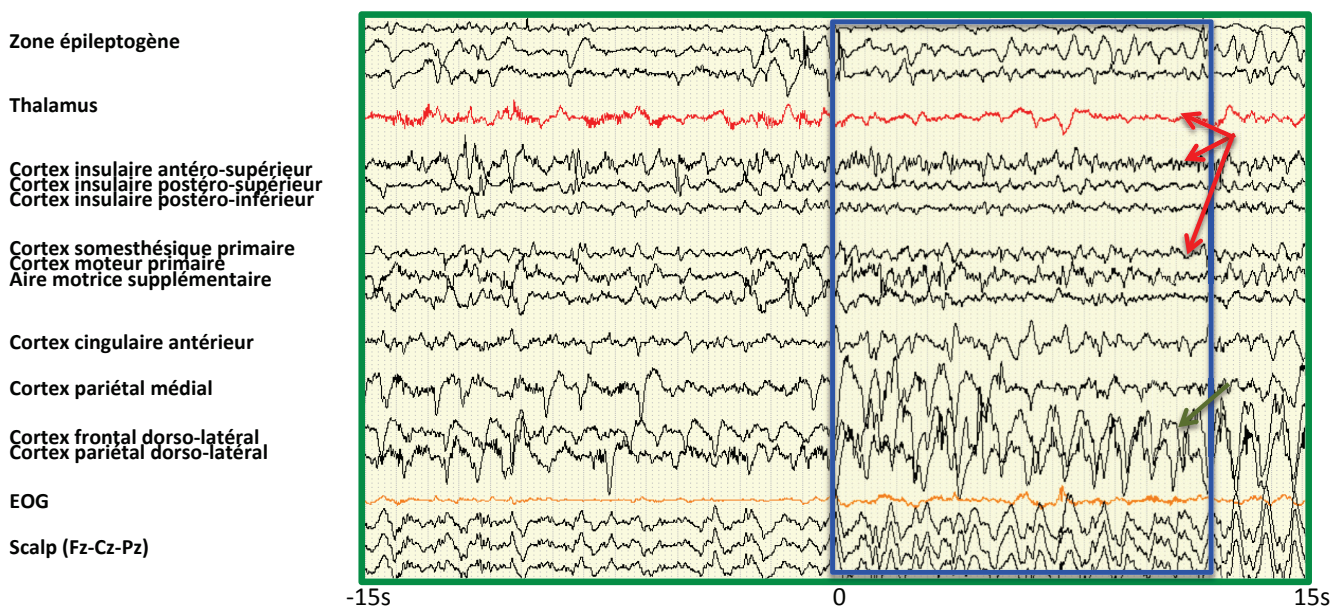


**Figure 11 : exemple de micro-éveil spontané local en N3 (patient 3)**



On observe, pendant le ME thalamique (rectangle vert) un blocage des OL et des fuseaux dans le thalamus et le cortex sensorimoteur (rectangle rouge), alors qu'aucune modification du signal n'est visible dans le cortex fronto-pariétal dorso-latéral (rectangle bleu).

**Figure 12 : exemple de micro-éveil à ondes lentes (patient 1)**

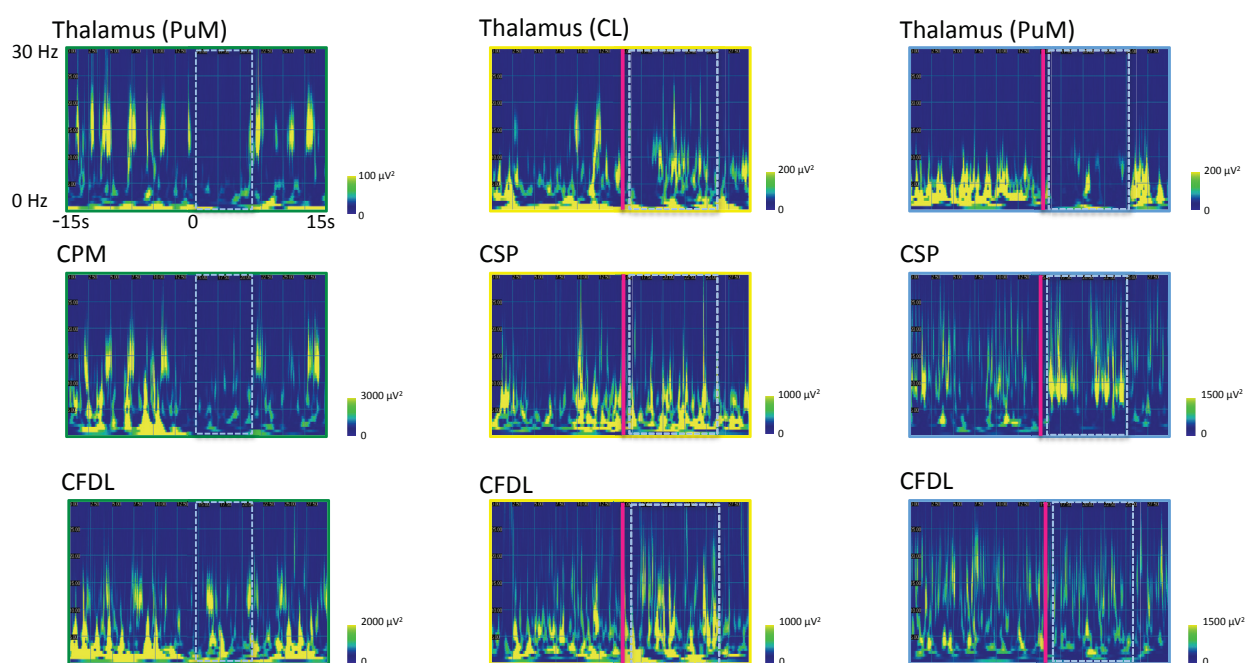


On observe un blocage des ondes lentes et des fuseaux dans le thalamus, l'insula, le cortex sensorimoteur primaire et l'AMS (flèches rouges), et une augmentation de l'activité delta dans le cortex frontopariétal dorsolatéral (flèche verte). Dans le cortex cingulaire antérieur et le cortex pariétal médial, on voit d'abord une augmentation des ondes lentes suivie d'une activité rapide de plus faible amplitude.



- En sommeil lent N2, et surtout concernant les MES nous avons constaté une variabilité inter et intra-individuelle majeure des modes d'activation corticale : diminution ou augmentation relative de la puissance des ondes lentes et/ou des rythmes rapides, ou absence de modification visuellement détectable (ME considérés comme « locaux »). Ainsi, la persistance de fuseaux de sommeil dans le cortex frontal au cours de ME a pu être observée, alors même que les fuseaux s'interrompaient dans le thalamus (PuM) et dans le cortex pariétal (comme en N3) (*Figure 13 et 14*).

**Figure 13 : exemples de représentations temps-fréquence de micro-éveils locaux en N2 et en SP**

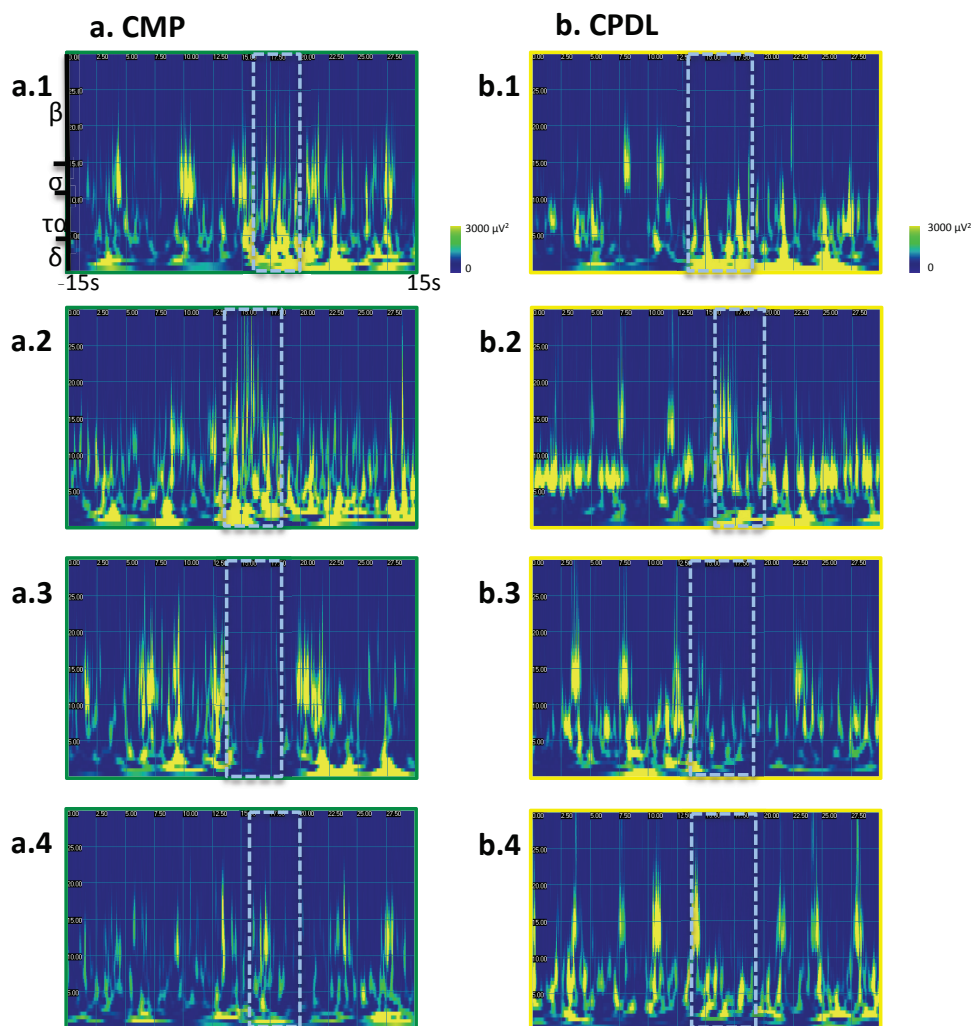


**Patient 1, ME spontané en N2:** persistance des fuseaux dans le CFDL alors qu'ils s'interrompent dans le thalamus et le CPM

**Patient 3, ME provoqué en N2 (ligne rose verticale = stimulation laser):** blocage des ondes lentes et des fuseaux puis apparition d'alpha dans le thalamus, augmentation des rythmes rapides dans le CFDL, pas de modification visible dans le CSP

**Patient 8, ME provoqué en SP (ligne rose verticale = stimulation laser):** blocage des ondes lentes dans le thalamus, augmentation des rythmes rapides dans le CSP, pas de modification visible dans le CFDL

**Figure 14 : exemples de représentations temps-fréquence de différents micro-éveils dans le cortex moteur primaire et le cortex pariétal dorso-latéral en N2**



a. Dans le CMP différents ME chez le même patient (patient 1):

a1) ME provoqué: blocage des fuseaux, augmentation de la puissance des fréquences delta à alpha

a2) ME spontané: blocage des fuseaux, augmentation de la puissance des fréquences thêta à beta

a3) ME spontané: diminution de la puissance de toutes les fréquences

a4) ME provoqué: pas de modification du signal avec même persistance d'un fuseau

b. Dans le CPDL différents ME chez le même patient (patient 3):

b1) ME spontané: blocage des fuseaux et augmentation de la puissance des fréquences delta à alpha

b2) ME provoqué: blocage des fuseaux et augmentation de la puissance dans toutes les bandes de fréquence

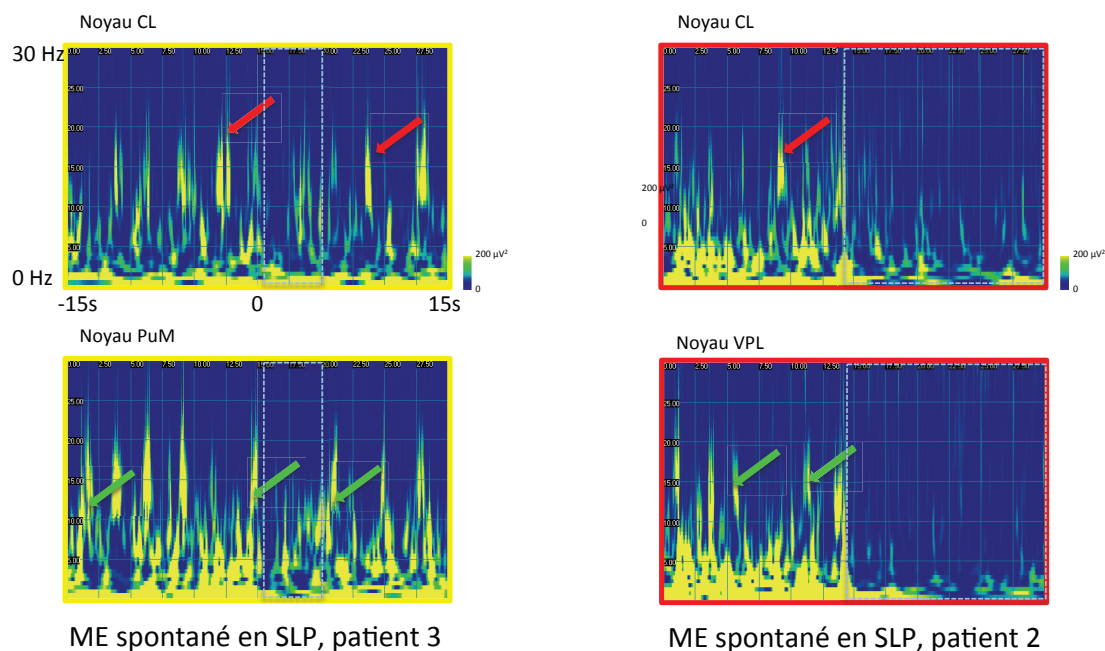
b3) ME spontané: diminution de la puissance de toutes les fréquences

b4) ME spontané: blocage isolé des fuseaux

La fenêtre temporelle d'analyse est représentée en rectangle en pointillé bleu (ME spontané [-2; +3 sec] et ME provoqué: [+ 1; +5 sec]). La ligne de base correspond au signal qui précède. On peut noter que pour les ME a1, a2 et b2, l'augmentation du signal dans la BF sigma ne correspond pas à des fuseaux (en terme de durée et de morphologie) mais à des rythmes rapides de veille

Chez des patients chez lesquels nous disposons de contacts d'enregistrement au sein de plusieurs noyaux thalamiques, un phénomène de dissociation similaire, entre noyaux thalamiques, concernant l'activité des fuseaux a pu être également observé (**Figure 15**).

**Figure 15 : dissociation intra-thalamique dans l'activité des fuseaux**



Les deux fuseaux indiqués en rouge ne sont enregistrés que dans le noyau CL alors que les fuseaux indiqués en vert sont surtout visibles dans le PuM. Le ME est moins visible dans le Noyau CL.

Le fuseau indiqué en rouge n'est enregistré que dans le noyau CL alors que les fuseaux indiqués en vert sont surtout visibles dans le VPL

L'analyse de ces différents modes d'activation en fonction des sites anatomiques a permis toutefois d'associer certaines régions corticales à des modes d'activation « prépondérants », à savoir le plus souvent observés (**Figure 16 et Tables 3a et 3b**): 1) une augmentation des fréquences rapides de thêta à bêta, dans le CSP, le CMP (pour les MEP) et le CIA (pour les MEP et MES) ; 2) une augmentation des fréquences lentes delta et des fréquences

thêta-alpha dans le cortex pariétal dorso-latéral et médial (MEP) et dans le cortex dorso-latéral frontal (MES); 3) une augmentation de toutes les fréquences étudiées dans le CCP et le cortex frontal dorso-latéral (MEP uniquement). Dans l'AMS, le CCA et le CIP, la variabilité spectrale des ME était telle qu'aucune différence significative au niveau des quatre BF étudiées n'a émergé des analyses statistiques.

**Table 3a et 3b : résultats des analyses statistiques (ANOVA à deux facteurs) pour les ME spontanés (3a) et les ME provoqués (3b) en N2 dans le cortex**

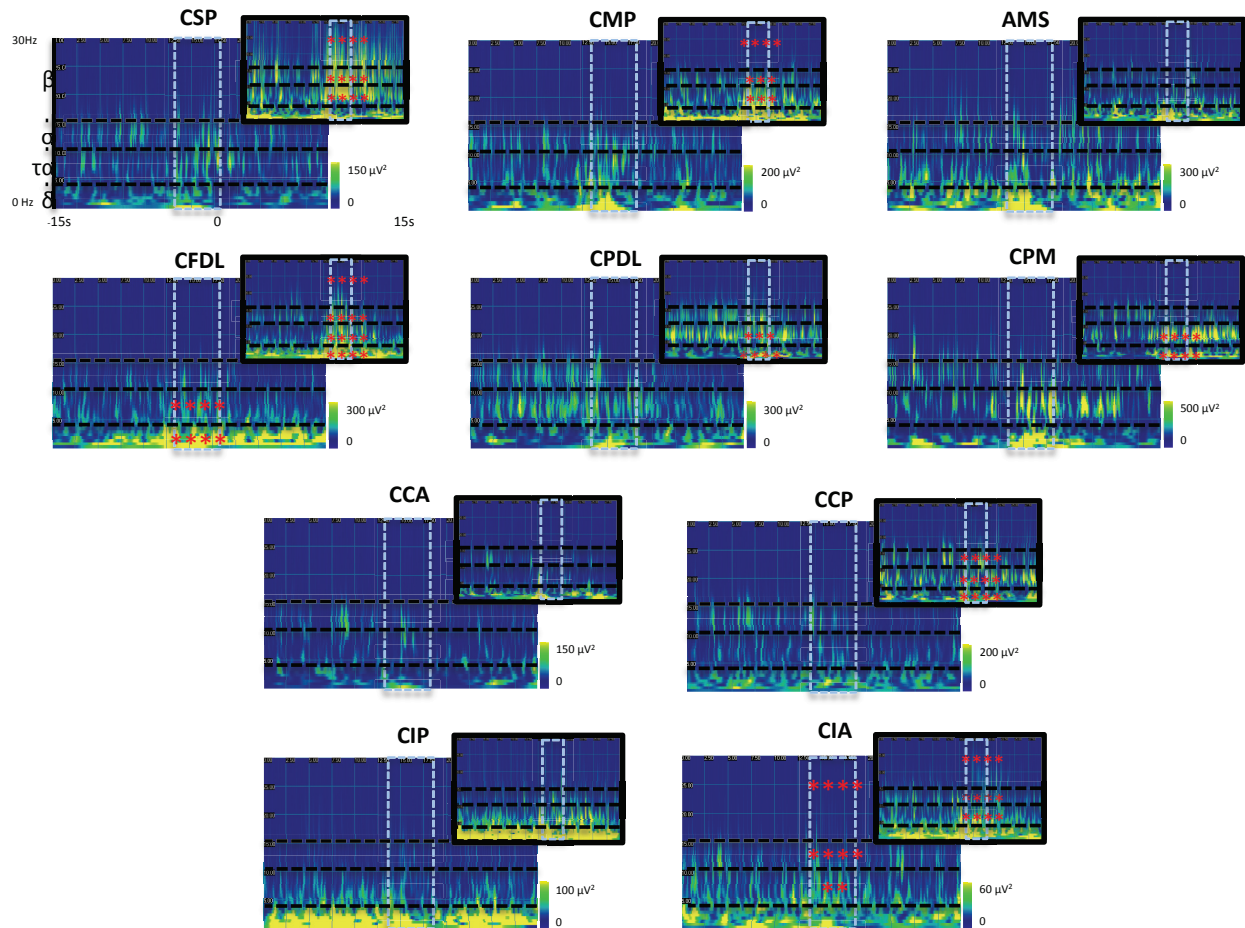
a

ME spontanés en SL N2							
	Résultats des ANOVA			Analyses Post-hoc (p et direction de la variation)			
	Effet Temps	Effet Bande de Fréquence	Interaction	delta	thêta-alpha	sigma	beta
CSP	F (1, 39) = 2,056; NS	F (3, 117) = 0,5501; NS	F (3, 117) = 2,17; NS	/	/	/	/
CMP	F (1, 49) = 0,080; NS	F (3, 147) = 12,35; p<0,0001	F (3, 147) = 1,385; NS	/	/	/	/
AMS	F (1, 29) = 0,0337; NS	F (3, 87) = 13,09; p<0,0001	F (3, 87) = 7,220; 0,0002	/	/	/	/
CFDL	F (1, 59) = 26,90; p=0,0027	F (3, 177) = 13,42; p<0,0001	F (3, 177) = 8,308; p<0,0001	<0,0001 ↑	<0,0001 ↑	NS	NS
CPDL	F (1, 49) = 0,0356; NS	F (3, 147) = 49,63; p<0,0001	F (3, 147) = 20,08; p<0,0001	/	/	/	/
CPM	F (1, 49) = 1,765; NS	F (3, 147) = 30,10; p<0,0001	F (3, 147) = 29,03; p<0,0001	/	/	/	/
CCA	F (1, 39) = 1,859; NS	F (3, 117) = 74,25; p<0,0001	F (3, 117) = 7,369; p=0,0001	/	/	/	/
CCP	F (1, 39) = 3,093; NS	F (3, 117) = 14,25; p<0,0001	F (3, 117) = 1,247; NS	/	/	/	/
CIP	F (1, 59) = 0,9154; NS	F (3, 177) = 56,23; p<0,0001	F (3, 177) = 5,826; p=0,0008	/	/	/	/
CIA	F (1, 66) = 5,003; p=0,0287	F (3, 198) = 15,19; p<0,0001	F (3, 198) = 3,297; p=0,0215	NS	0,0019 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑

b

ME provoqués en SL N2							
	Résultats des ANOVA			Analyses Post-hoc (p et direction de la variation)			
	Effet Temps	Effet Bande de Fréquence	Interaction	delta	thêta-alpha	sigma	beta
CSP	F (1, 23) = 28,95; p<0,0001	F (3, 69) = 1,505; NS	F (3, 69) = 9,419; p<0,0001	NS	0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑
CMP	F (1, 37) = 19,88; p<0,0001	F (3, 111) = 24,50; p<0,0001	F (3, 111) = 5,436; p=0,0016	NS	0,0001 ↑	0,0001 ↑	< 0,0001 ↑
AMS	F (1, 29) = 0,1220; NS	F (3, 87) = 24,62; p<0,0001	F (3, 87) = 0,5279; NS	/	/	/	/
CFDL	F (1, 43) = 34,23; p<0,0001	F (3, 129) = 13,50; p<0,0001	F (3, 129) = 1,842; NS	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑
CPDL	F (1, 42) = 9,926; p=0,0030	F (3, 126) = 33,24; p<0,0001	F (3, 126) = 9,950; p<0,0001	< 0,0001 ↑	0,0002 ↑	NS	NS
CPM	F (1, 42) = 9,378; p=0,0038	F (3, 126) = 25,81; p<0,0001	F (3, 126) = 8,957; p<0,0001	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS	NS
CCA	F (1, 34) = 2,101; NS	F (3, 102) = 20,16; p<0,0001	F (3, 102) = 1,417; NS	/	/	/	/
CCP	F (1, 32) = 15,49; p=0,0004	F (3, 96) = 13,39; p<0,0001	F (3, 96) = 3,625; p=0,0158	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS
CIP	F (1, 49) = 0,5493; NS	F (3, 147) = 10,39; p<0,0001	F (3, 147) = 12,93; p<0,0001	/	/	/	/
CIA	F (1, 51) = 30,14; p<0,0001	F (3, 153) = 8,824; p<0,0001	F (3, 153) = 7,559; p<0,0001s	NS	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑

**Figure 16 : représentations temps-fréquence des micro-éveils en N2 dans le cortex**



Chaque diagramme TF représente une grande moyenne des analyses TF de N patients (nombre de patients ayant une électrode dans le site cortical étudié: voir **Figure 5**) ( $n \leq 10$  ME par patients pour chaque site).

Les ME spontanés sont représentés dans les grands diagrammes et les ME provoqués dans les petits diagrammes en haut à droite.

Les astérisques rouges signifient une augmentation significative de la puissance du signal dans la bande de fréquence considérée,  $p < 0.05$  \* à  $p < 0.00001$  \*\*\*\* (ANOVA à deux facteurs).

La fenêtre temporelle d'analyse est représentée par le rectangle en traits pointillés bleu ciel (ME spontanés: [-2; +3 sec]; ME provoqués +1; +5 sec]). La ligne de base correspond au signal qui précède.

- En sommeil paradoxal, de la même manière, l'analyse des modifications de la composition spectrale de l'EEG au cours des ME en fonction des sites anatomiques a permis d'associer certaines régions corticales à des modes d'activation « prépondérants » (**Figure 17 et Tables 4a et 4b**): 1) une augmentation des fréquences rapides thêta à beta dans le CSP, le CPM (MES) et sigma à beta dans le CIA (MES) ; 2) une augmentation de quasiment toutes les fréquences, lentes et rapides (delta à sigma dans le CPDL (MEP) et le CCP (MEP), delta à beta dans le CPM (MEP) et le CCP (MES)) ; 3) une diminution des fréquences rapides thêta-alpha et beta dans le CCA (MES), thêta-alpha à sigma (MEP) ou beta (MES) pour le CIP, associée à une diminution du delta pour les MEP dans le CCA. Dans CMP, l'AMS et le CFDL, aucun mode d'activation reproductible n'a émergé des analyses statistiques. De même qu'en sommeil lent, des ME « locaux », c'est à dire pour lesquels des modifications d'activité n'ont pas été mises en évidence dans toutes les régions étudiées, ont aussi été observés.

**Table 4a et 4bb : résultats des analyses statistiques (ANOVA à deux facteurs) pour les ME spontanés (4a) et les ME provoqués (4b) en SP dans le cortex**

a

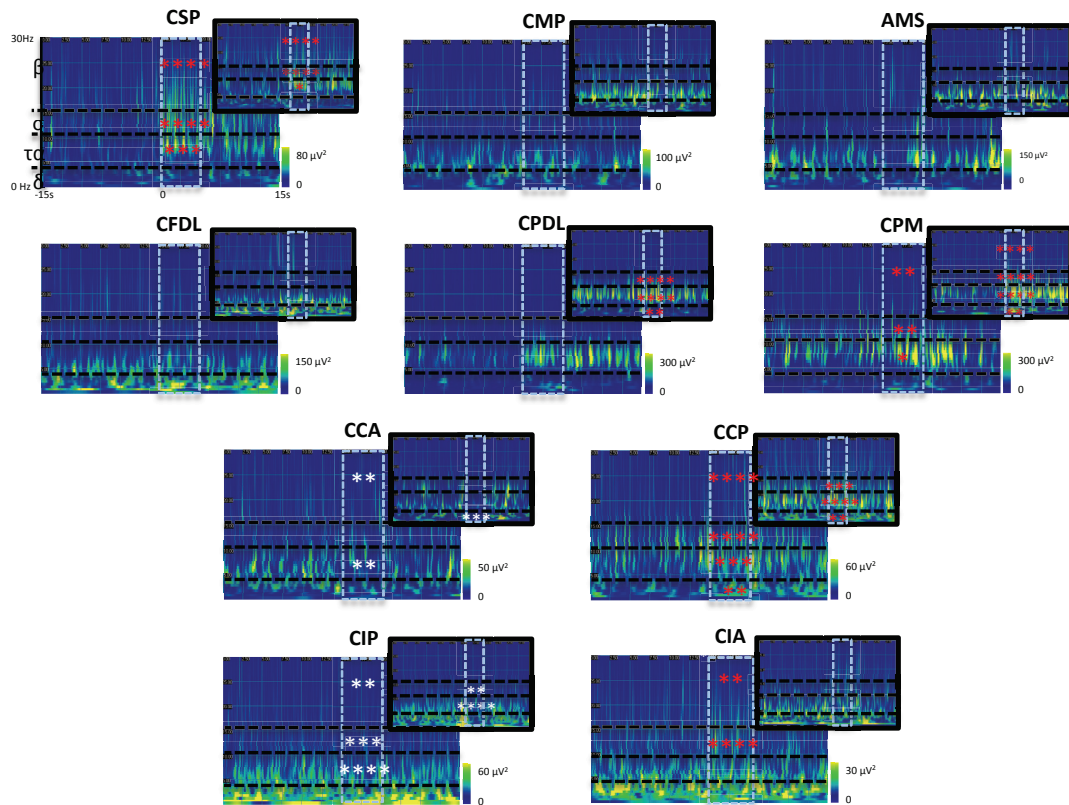
ME spontanés en SP							
Résultats des ANOVA				Analyses Post-hoc (p et direction de la variation)			
	Effet Temps	Effet Bande de Fréquence	Interaction	delta	thêta-alpha	sigma	beta
CSP	F (1, 39) = 15.39; p=0.0003	F (3, 117) = 24.21; p<0.0001	F (3, 117) = 16.94; p<0.0001	NS	0,0009 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑
CMP	F (1, 49) = 0.5856; NS	F (3, 147) = 157.3; p<0.0001	F (3, 147) = 8.566; p<0.0001	/	/	/	/
AMS	F (1, 29) = 1.590; NS	F (3, 87) = 76.32; p<0.0001	F (3, 87) = 5.868; p=0.0011	/	/	/	/
CFDL	F (1, 59) = 0.4883; NS	F (3, 177) = 257.4; p<0.0001	F (3, 177) = 1.3938032; NS	/	/	/	/
CPDL	F (1, 49) = 3.836; NS	F (3, 147) = 120.3; p<0.0001	F (3, 147) = 1.145; NS	/	/	/	/
CPM	F (1, 49) = 10.01; p=0.0027	F (3, 147) = 65.34; p<0.0001	F (3, 147) = 0.9502; NS	NS	0.0254 ↑	0,0022 ↑	0.0043 ↑
CCA	F (1, 38) = 12.21; p=0.0012	F (3, 114) = 169.8; p<0.0001	F (3, 114) = 1.994; NS	NS	0.0011 ↓	NS	0.0016 ↓
CCP	F (1, 39) = 17.95; p=0.0001	F (3, 117) = 47.54; p<0.0001	F (3, 117) = 0.6681; NS	0.0089 ↑	0.0002 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑
CIP	F (1, 59) = 31.95; p<0.0001	F (3, 177) = 148.6; p<0.0001	F (3, 177) = 3.763; p=0.0119	NS	<0,0001 ↓	<0,0001 ↓	0.0002 ↓
CIA	F (1, 69) = 6.325; p=0.0142	F (3, 207) = 50.40; p<0.0001	F (3, 207) = 6.858; p=0.0002	NS	NS	< 0,0001 ↑	0.0069 ↑

b

ME provoqués en SP							
Résultats des ANOVA				Analyses Post-hoc (p et direction de la variation)			
	Effet Temps	Effet Bande de Fréquence	Interaction	delta	thêta-alpha	sigma	beta
CSP	F (1, 35) = 17.17; p=0.0002	F (3, 105) = 31.49; p<0.0001	F (3, 105) = 16.19; p<0.0001	NS	0,0147 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑
CMP	F (1, 35) = 0.2309; NS	F (3, 105) = 91.73; p<0.0001	F (3, 105) = 6.533; p=0.0004	/	/	/	/
AMS	F (1, 15) = 0.0474; NS	F (3, 45) = 161; p<0.0001	F (3, 45) = 9.639; p=0.0017	/	/	/	/
CFDL	F (1, 45) = 0.8859; NS	F (3, 135) = 318; p<0.0001	F (3, 135) = 5.059; p=0.0024	/	/	/	/
CPDL	F (1, 45) = 13.65; p=0.0006	F (3, 135) = 130.5; p<0.0001	F (3, 135) = 11.98; p<0.0001	0.001 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS
CPM	F (1, 49) = 64.41; p<0.0001	F (3, 147) = 79.56; p<0.0001	F (3, 147) = 12.15; p<0.0001	0.0010 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑
CCA	F (1, 25) = 15.94; p=0.0005	F (3, 75) = 214.4; p<0.0001	F (3, 75) = 0.9393; NS	0.0007 ↓	NS	NS	NS
CCP	F (1, 39) = 12.52; p=0.0011	F (3, 117) = 73.80; p<0.0001	F (3, 117) = 4.725; p=0.0038	0.0086 ↑	< 0,0001 ↑	0.0008 ↑	NS
CIP	F (1, 45) = 20.42; p<0.0001	F (3, 135) = 190.8; p<0.0001	F (3, 135) = 8.333; p<0.0001	NS	<0,0001 ↓	0.0002 ↓	NS
CIA	F (1, 61) = 0.5939; NS	F (3, 183) = 97.00; p<0.0001	F (3, 183) = 7.169; p<0.0001	/	/	/	/



**Figure 17 : représentations temps-fréquence des micro-éveils en SP dans le cortex**



Chaque diagramme TF représente une grande moyenne des analyses TF de N patients (nombre de patients ayant une électrode dans le site cortical étudié: voir **Figure 5**) ( $n \leq 10$  ME par patients pour chaque site).

Les ME spontanés sont représentés dans les grands diagrammes et les ME provoqués dans les petits diagrammes en haut à droite.

Les astérisques blancs signifient une diminution et les astérisques rouges une augmentation significative de la puissance du signal dans la bande de fréquence considérée,  $p < 0.05$  \* à  $p < 0.00001$  \*\*\*\* (ANOVA à deux facteurs).

La fenêtre temporelle d'analyse est représentée par le rectangle en traits pointillés bleu ciel (ME spontanés: [0; +5 sec]; ME provoqués +1; +5 sec]). La ligne de base correspond au signal qui précède.

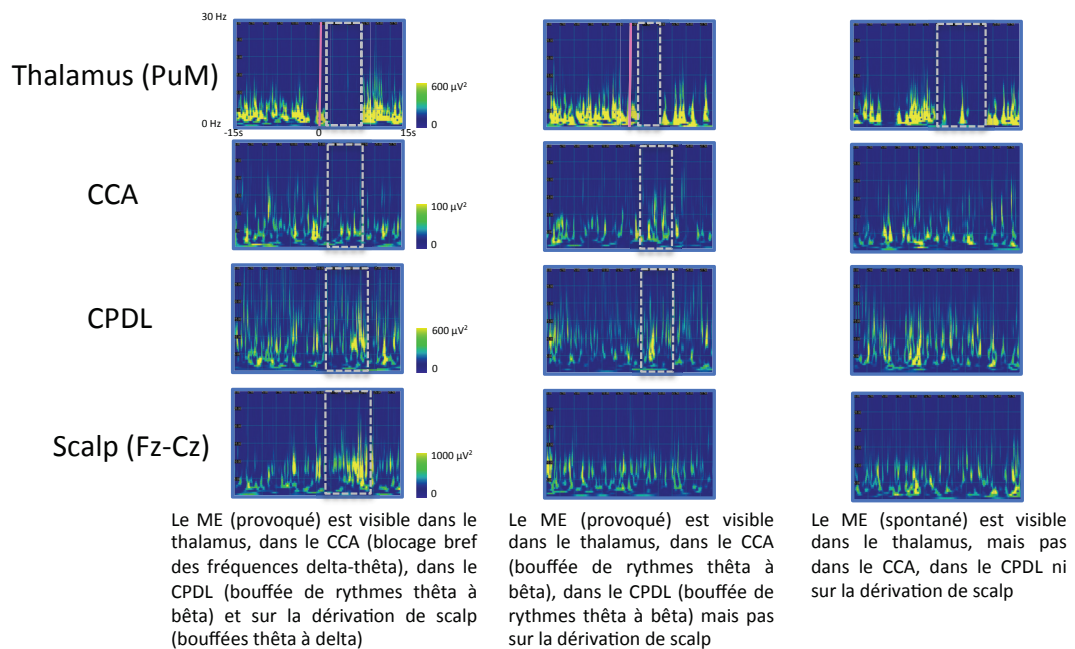
On peut noter que la fréquence sigma fait référence à la bande 11-15 HZ, c'est à dire principalement à du beta et non aux fuseaux.

- Chez 5 patients, nous disposons aussi de l'enregistrement simultané de l'EEG de scalp (FZ-CZ et Cz-PZ). Sur 225 ME thalamiques analysés chez ces patients, nous avons observés 31 ME pour lesquels aucune modification n'était visible dans ces dérivation, soit 14% (**Figure 18**). Ces ME pouvaient survenir en SP

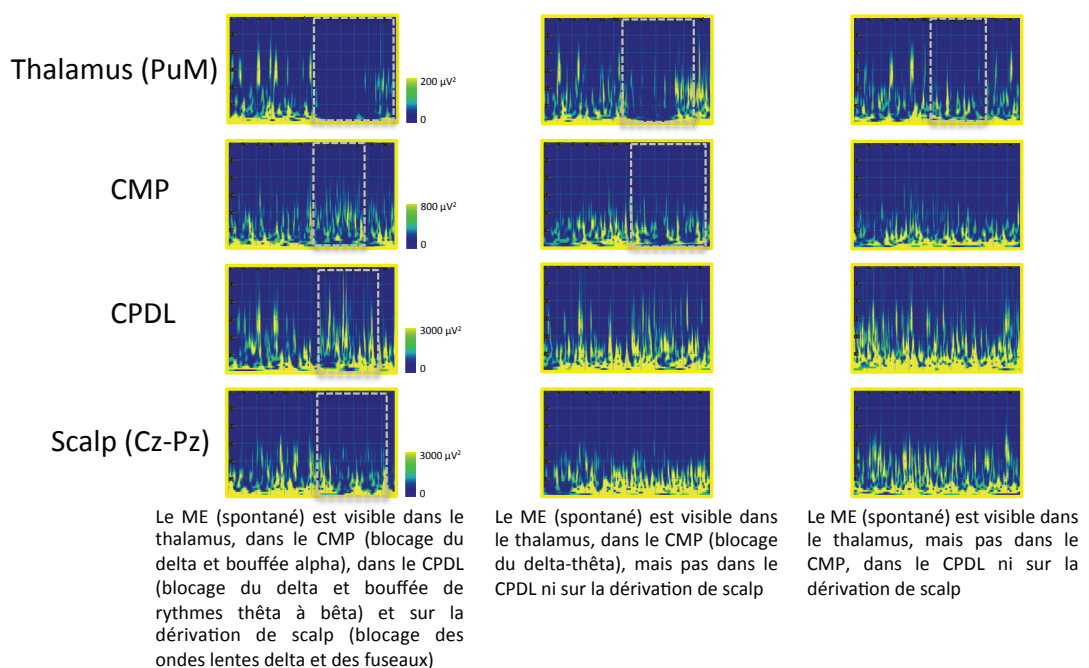
ou en SL. Ils étaient en revanche quasi-systématiquement associé à une modification du signal dans au moins une des aires corticales explorées en S-EEG : nous n'avons observé que 3 ME thalamiques isolés (sans modification de signal visible sur le scalp ou sur au moins une dérivation de S-EEG) dont un en N2, un en N3 et un en SP.

**Figure 18 : distribution spatiale variable des micro-éveils**

**ME en SP, patient 4**



**ME en N3, patient 3**



**Les ME sont encadrés en rectangles pointillés gris**



## 2. Déterminants de ces modes d'activation

### 2.1. Impact du facteur à l'origine du ME

Cette hétérogénéité des ME au sein du cortex nous a poussé à rechercher les facteurs susceptibles d'influencer le mode d'activation corticale au cours d'un ME. Parmi ces facteurs, nous avons d'abord étudié celui étant à l'origine du ME, c'est à dire le « trigger » (*tables 5a et 5b*).

**Tables 5a et 5b : résultats des analyses statistiques (ANOVA à deux facteurs) pour les micro-éveils provoqués et spontanés en N2 et en SP.**

a

	ME en N2						
	Résultats des ANOVA			Analyses Post-hoc (p et direction de la variation)			
	Effet condition (MES/MEP)	Effet Bande de Fréquence	Interaction	delta	thêta-alpha	sigma	beta
THALAMUS	F (1, 142) = 4,392; p=0.0379	F (3, 426) = 5,223; p=0.0015	F (3, 426) = 16,87; p<0.0001	NS	NS	0,0344 ↑	< 0,0001 ↑
CSP	F (1, 62) = 16,51; p=0.0001	F (3, 186) = 10,02; p<0.0001	F (3, 186) = 2,534; NS	NS	0,0007 ↑	0,0002 ↑	0,0004 ↑
CMP	F (1, 86) = 10,01; p=0.0021	F (3, 258) = 1,584; NS	F (3, 258) = 6,242; p=0.0004	NS	0,0098 ↑	0,0033 ↑	0,0009 ↑
AMS	F (1, 58) = 0,01202; NS	F (3, 174) = 3,903; p=0.0099	F (3, 174) = 3,363; p=0.02	/	/	/	/
CFDL	F (1, 102) = 8,200; p=0.0051	F (3, 306) = 6,105; p=0.0005	F (3, 306) = 1,637; NS	NS	0,0117 ↑	0,0284 ↑	NS
CPDL	F (1, 91) = 6,805; p=0.0106	F (3, 273) = 27,51; p<0.0001	F (3, 273) = 0,9288; NS	NS	NS	0,0444 ↑	NS
CPM	F (1, 91) = 2,844; NS	F (3, 273) = 32,04; p<0.0001	F (3, 273) = 0,6833; NS	/	/	/	/
CCA	F (1, 73) = 0,1327; NS	F (3, 219) = 6,540; p=0.0003	F (3, 219) = 1,009; NS	/	/	/	/
CCP	F (1, 71) = 3,463; NS	F (3, 213) = 4,196; p=0.0065	F (3, 213) = 1,183; NS	/	/	/	/
CIP	F (1, 108) = 0,01872; NS	F (3, 324) = 20,14; p<0.0001	F (3, 324) = 4,109; p=0.001	/	/	/	/
CIA	F (1, 117) = 3,947; p=0.0493	F (3, 351) = 11,10; p<0.0001	F (3, 351) = 1,440; NS	NS	NS	0,0500 ↑	NS

b

	ME en SP						
	Résultats des ANOVA			Analyses Post-hoc (p et direction de la variation)			
	Effet condition (MES/MEP)	Effet Bande de Fréquence	Interaction	delta	thêta-alpha	sigma	beta
THALAMUS	F (1, 144) = 0,6412; NS	F (3, 432) = 172,1; p<0.0001	F (3, 432) = 1,351; NS	/	/	/	/
CSP	F (1, 74) = 0,07505; NS	F (3, 222) = 32,75; p<0.0001	F (3, 222) = 0,1270; NS	/	/	/	/
CMP	F (1, 84) = 0,01283; NS	F (3, 252) = 14,69; p<0.0001	F (3, 252) = 0,03341; NS	/	/	/	/
AMS	F (1, 44) = 0,8631; NS	F (3, 132) = 12,97; p<0.0001	F (3, 132) = 0,4383; NS	/	/	/	/
CFDL	F (1, 104) = 0,04408; NS	F (3, 312) = 5,756; p=0.0008	F (3, 312) = 2,052; NS	/	/	/	/
CPDL	F (1, 94) = 3,115; NS	F (3, 282) = 8,653; p<0.0001	F (3, 282) = 3,249; p=0.0223	/	/	/	/
CPM	F (1, 98) = 13,04; p=0.0005	F (3, 294) = 10,59; p<0.0001	F (3, 294) = 4,459; p=0.0044	NS	NS	< 0,0001 ↑	NS
CCA	F (1, 64) = 0,01994; NS	F (3, 192) = 1,189; NS	F (3, 192) = 1,506; NS	/	/	/	/
CCP	F (1, 78) = 0,09709; NS	F (3, 234) = 2,787; p=0.0414	F (3, 234) = 2,850; p=0.0382	/	/	/	/
CIP	F (1, 104) = 1,192; NS	F (3, 312) = 10,11; p<0.0001	F (3, 312) = 1,221; NS	/	/	/	/
CIA	F (1, 130) = 0,4363; NS	F (3, 390) = 13,75; p<0.0001	F (3, 390) = 1,036; NS	/	/	/	/

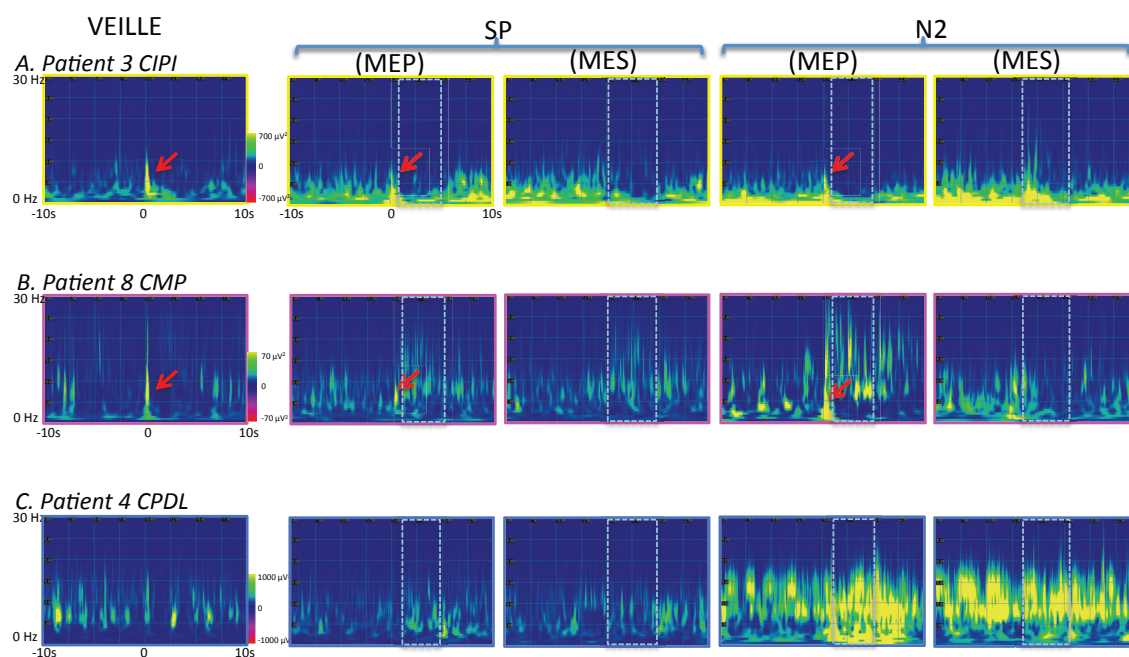
- En sommeil lent, nous avons observé des différences entre les MES et les MEP dans le CMP, le CSP, le CIA, le CFDL et le CPDL. Plus précisément, dans ces régions, l'augmentation de puissance thêta à beta était plus marquée au cours des MEP que des MES. Il est intéressant de noter que au delà de l'induction d'un MEP, des réponses spécifiquement liées à la stimulation laser elle-même n'ont pas systématiquement été observées dans chacune de ces régions (*Figure 19*). Enfin, cet effet trigger en sommeil lent était observé non

seulement dans certaines régions corticales, mais également au niveau du thalamus où la puissance sigma et bêta était plus élevée pour les MEP que pour les MES.

- En sommeil paradoxal cet effet « trigger » était observé uniquement dans le CPM, avec une augmentation de la puissance sigma plus importante pour les MEP que pour les MES.

Ainsi, l'effet trigger pour les stimulations nociceptives se manifeste principalement en sommeil lent dans de nombreuses aires corticales mais aussi dans le thalamus : il se caractérise par une modulation de la puissance dans les BF rapides, plus marquée lorsque le trigger est une stimulation douloureuse.

**Figure 19 : représentations temps-fréquence de micro-éveils spontanés et provoqués en N2 et SP**



**Colonne de gauche :** représentation TF du signal EEG à l'état de veille, 10 seconde avant et 10 secondes après une stimulations nociceptive. On voit une réponse évoquée par la stimulation (flèche rouge) dans le CIPI (patient 3) et le CMP (patient 8) mais pas dans le CPDL.

**Dans le CIPI :** on retrouve cette réponse évoquée en SP et en N2 comme cela a déjà été montré (Bastuji et al., 2011). Les ME qui suivent cette réponse (rectangle pointillé bleu ciel [+1; +5 sec]) se traduisent par une diminution de la puissance delta et thêta-alpha. Ce pattern n'est pas différent de celui des ME spontanés [0; +5 sec].

**Dans le CMP :** on retrouve cette réponse évoquée en SP et en N2 comme cela a déjà été montré (Bastuji et al., 2011). Les ME qui suivent cette réponse (rectangle pointillé bleu ciel [+1; +5 sec]) se traduisent par une augmentation des rythmes rapides beta en SP, identique au ME spontané [0; +5 sec]. En N2, le ME provoqué se caractérise par une augmentation des fréquences thêta-alpha et beta, ce qui n'est pas le cas du ME spontané.

**Dans le CPDL :** bien que cette structure ne réponde pas directement à la stimulation douloureuse, les ME provoqués et les ME spontanés diffèrent en N2 (augmentation des fréquences delta à thêta-alpha plus marquée pour les MEP)

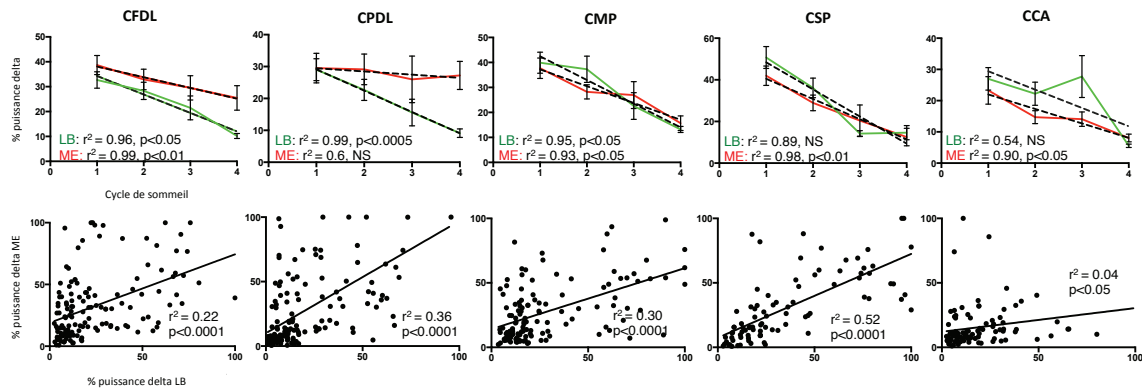
*Chaque représentation TF correspond à une moyenne de  $n \leq 10$  ME dans chaque condition, et elle est centrée sur les 10 secondes avant et après la stimulation ou le début du ME.*

## 2.2. Effet lié à l'homéostasie

L'homéostasie est un des mécanismes de régulation du sommeil lent, qui se traduit au plan phénoménologique par la survenue plus probable d'un épisode de sommeil lorsqu'il y a une privation ou une dette de sommeil, c'est à dire lorsque l'épisode de sommeil précédent est plus lointain dans le temps. Sur le plan électrophysiologique, le processus homéostatique est associé aux ondes lentes delta. La puissance de ces dernières est plus importante au cours des premiers cycles de sommeil et diminue ensuite lorsque la pression de sommeil est moins importante (Borbely, 1982, Borbely and Achermann, 1999, Achermann and Borbely, 2003). Ainsi, peut-on faire l'hypothèse que cette composante delta subisse également des variations selon que le ME survienne en début ou en fin de nuit. Nous avons testé cette possibilité en étudiant la puissance delta au cours des ME sélectionnés en sommeil lent (N2 et N3), en fonction des cycles de sommeil, dans deux cortex associatifs (CFDL et CPDL), deux cortex primaires (CMP et CSP) et dans le CCA. Nous avons d'abord vérifié que la puissance delta du signal de la ligne de base (correspondant à l'état de sommeil avant le ME) montrait une décroissance en fonction des cycles de sommeil. Cette décroissance s'est révélée significative dans le CFDL, le CPDL et le CMP (régression linéaire : CFDL :  $r^2 = 0.96$ ,  $p < 0.05$ ; CPDL:  $r^2 = 0.99$ ,  $p < 0.0005$ , CMP :  $r^2 = 0.95$ ,  $p < 0.05$ ), et nous avons observé une tendance non significative dans le CSP (régression linéaire,  $r^2 = 0.89$ ,  $p = 0.06$ ), alors que cela n'était pas le cas dans le CCA (régression linéaire,  $r^2 = 0.51$ ,  $p = 0.28$ ). Nous avons ensuite analysé de la même manière la puissance delta au cours des ME, en fonction des cycles de sommeil, dans ces même régions d'intérêt: une décroissance de la puissance delta a été observée dans plusieurs régions (régression linéaire, CFDL:  $r^2 = 0.99$ ,  $p < 0.01$ , CMP:  $r^2 = 0.93$ ,  $p < 0.05$ , CSP:  $r^2 = 0.98$ ,  $p < 0.01$ , et CCA,  $r^2 = 0.91$ ,  $p < 0.05$ ). De plus, nous avons mis en évidence une corrélation significative entre la puissance delta au cours des ME et la puissance delta durant la ligne de base (régression linéaire : CFDL  $r^2 = 0.22$ ,  $p < 0.0001$ , CPDL:  $r^2 = 0.96$ ,  $p < 0.0001$ , CMP:  $r^2 = 0.30$ ,  $p < 0.0001$  et CSP:  $r^2 = 0.52$ ,  $p < 0.0001$ ; pour le CCA, cette corrélation était significative mais très faible:  $r^2 = 0.04$ ,  $p < 0.05$ ) (**Figure 20**). Ainsi, dans certains cortex, le facteur homéostatique intervient dans le mode d'activation corticale au cours du ME, dans la mesure où la puissance delta au cours du ME dépend de la puissance delta correspondant au cycle de sommeil en

cours. La composition fréquentielle des ME de début de nuit est donc plus riche en ondes lentes delta que celle des ME de fin de nuit.

**Figure 20 : effet de l'homéostasie sur la puissance delta au cours des micro-éveils**



Graphiques situés en haut: variation de la puissance delta (puissance normalisé, moyenne  $\pm$  sem) du signal EEG de la ligne de base LB (en vert) et des micro-éveils en N2 et N3 (ligne rouge), en fonction du cycle de sommeil (1 à 4) dans différentes régions corticales. Les traits pointillés représentent l'analyse de régression linéaire.

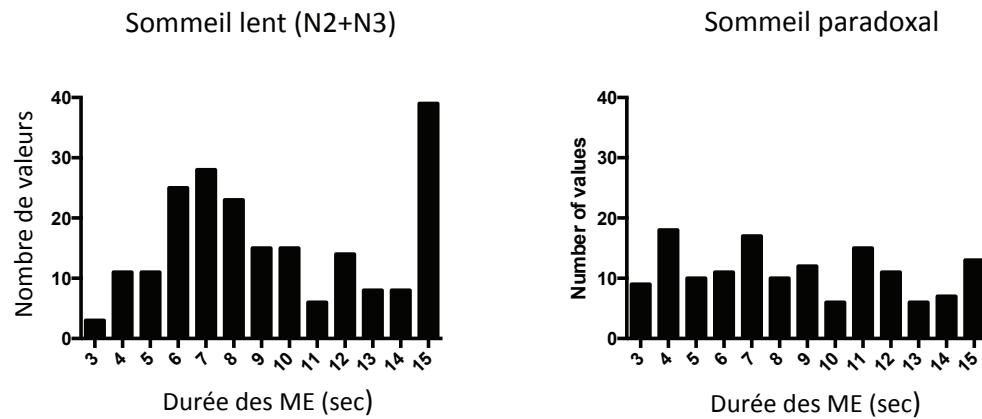
Graphiques situés en bas: corrélation entre la puissance delta avant (LB) et pendant le ME dans différentes aires corticales. Chaque point représente un micro-éveil.

### 3. Durée des micro-éveils

Nous avons ensuite étudié la durée des ME sélectionnés, en nous basant sur la durée de l'activation thalamique (**Figure 21**). Nous avons pu montrer que :

- les ME en sommeil lent étaient plus longs que ceux survenant en sommeil paradoxal (9.5 s  $\pm$  0.3 s vs 8.6  $\pm$  0.3 s (mean  $\pm$  sem), Mann-Whitney,  $p < 0.05$ ).
- la distribution des durées des ME différait radicalement entre ces deux états : en sommeil paradoxal, cette distribution était homogène et localisée dans un intervalle entre 3 et 15 secondes, alors que celle des ME survenant en SL était bimodale, avec deux pics à 7 et 15 secondes (durée maximale des ME).

**Figure 21 : Histogrammes de la distribution de la durée des micro-éveils en sommeil lent et en sommeil paradoxal**



En sommeil lent, la distribution de la durée des ME est bimodale centrée sur 7 et 15 secondes, alors qu'en sommeil paradoxal, elle est homogène entre 3 et 15 secondes.

#### 4. Différence entre les micro-éveils et l'état de veille

Après avoir caractérisé les ME en terme de durée et de contenu spectral, en fonction des stades et des sites anatomiques étudiés, nous avons cherché à déterminer si les ME correspondaient à une brève intrusion de veille pendant le sommeil, à un état « entre-deux », dont les caractéristiques seraient intermédiaires entre le sommeil et la veille, ou bien à un état spécifiquement différent, en terme de contenu fréquentiel du signal. Pour cela, nous avons comparé la composition spectrale du signal S-EEG au cours des MES (en SLL, en SLP et en SP) à celle du signal enregistré pendant l'état de veille : dans le thalamus comme dans le cortex, en sommeil lent comme en sommeil paradoxal, cette composition spectrale au cours des ME diffère de celle observée pendant l'état de veille sauf, en SP dans le CMP, l'AMS, le CCP et le CCA (**Table 6**).

- Dans le thalamus, la puissance du signal dans chacune des BF étudiées (delta à beta) au cours des MES en N2, N3 et SP est intermédiaire entre celle obtenue au cours de la veille et celle obtenue au cours du sommeil.
- Il en est de même dans le cortex pour les MES en N3 (augmentation de la puissance du signal dans les BF de delta à sigma et diminution de la puissance

beta au cours des MES comparativement à la veille). En revanche, au cours du N2, dans de nombreuses aires corticales (CFDL, CPDL, CPM, CCP) nous avons observé pendant les MES des valeurs plus importantes de puissance spectrale dans la plupart des BF par rapport à celles observées pendant la veille et pendant le sommeil. Enfin, en SP, la puissance delta restait plus élevée au cours des ME que de la veille dans les cortex associatifs (CFDL et CPDL), alors que dans le cortex somesthésique primaire et dans le cortex pariétal interne, la puissance bêta pendant les ME était plus élevée qu’au cours du SP et de la veille.

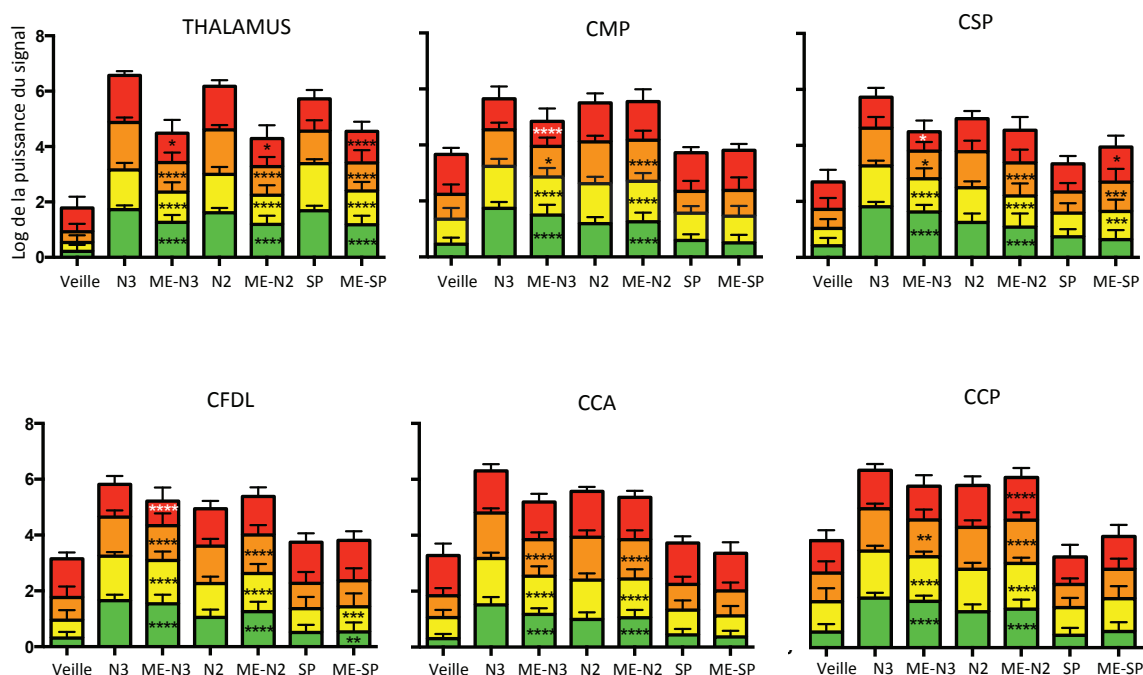
Ainsi, dans le cortex, la puissance du signal dans les BF étudiées au cours des ME peut être soit identique à celui de la veille (en SP dans le cortex moteur notamment), soit intermédiaire entre veille et sommeil (en N3), soit différente, en particulier en terme de puissance delta (en N2) et beta (en SP), plus importantes dans certains cortex au cours des ME que pendant l’état de veille et de sommeil (**Figure 22**).

**Table 6 : résultats des analyses statistiques (ANOVA à deux facteurs) comparant l’état de veille aux micro-éveils**

	Résultats des ANOVA		
	Effet état de vigilance	Effet bande de fréquence	Interaction
THALAMUS	F (3, 297) = 122,7; p<0.0001	F (3, 891) = 13,37; p<0.0001	F (9, 891) = 29,31; p<0.0001
CSP	F (3, 142) = 18,24; p<0.0001	F (3, 426) = 17,47; NS	F (9, 426) = 28,51; p<0.0001
CMP	F (3, 181) = 36,40; p<0.0001	F (3, 543) = 57,81; p<0.0001	F (9, 543) = 59,71; p<0.0001
AMS	F (3, 111) = 37,98; p<0.0001	F (3, 333) = 65,33; p<0.0001	F (9, 333) = 22,60; p<0.0001
CFDL	F (3, 217) = 48,65; p<0.0001	F (3, 651) = 76,74; p<0.0001	F (9, 651) = 93,33; p<0.0001
CPDL	F (3, 193) = 41,02; p<0.0001	F (3, 579) = 91,20; p<0.0001	F (9, 579) = 27,37; p<0.0001
CPM	F (3, 193) = 50,43; p<0.0001	F (3, 579) = 44,65; p<0.0001	F (9, 579) = 17,45; p<0.0001
CCA	F (3, 140) = 60,62; p<0.0001	F (3, 420) = 185,4; p<0.0001	F (9, 420) = 21,08; p<0.0001
CCP	F (3, 153) = 52,77; p<0.0001	F (3, 459) = 37,77; p<0.0001	F (9, 459) = 23,18; p<0.0001
CIP	F (3, 211) = 25,63; p<0.0001	F (3, 633) = 161,2; p<0.0001	F (9, 633) = 17,23; p<0.0001
CIA	F (3, 242) = 8,872; p<0.0001	F (3, 726) = 55,71; p<0.0001	F (9, 726) = 38,27; p<0.0001

	Post-hoc (p et variation)											
	delta			thêta-alpha			sigma			beta		
	SWS-A vs Wake	N2-A vs wake	REM-A vs wake	SWS-A vs Wake	N2-A vs wake	REM-A vs wake	SWS-A vs Wake	N2-A vs wake	REM-A vs wake	SWS-A vs Wake	N2-A vs wake	REM-A vs wake
THALAMUS	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	0,0177 ↑	0,0477 ↑	< 0,0001 ↑
CSP	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	0,0001 ↑	0,0193 ↑	< 0,0001 ↑	0,0005 ↑	0,0346 ↓	NS	0,0128 ↑
CMP	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS	0,0259 ↑	< 0,0001 ↑	NS	< 0,0001 ↓	NS	NS
AMS	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS	0,0004 ↑	< 0,0001 ↑	NS	0,0015 ↑	< 0,0001 ↑	NS	0,0342 ↓	NS	NS
CFDL	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	0,0062 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	0,0007 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS	< 0,0001 ↓	NS	NS
CPDL	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	0,0017 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	0,0003 ↑	NS	< 0,0001 ↑	NS	NS	0,0179 ↑	NS
CPM	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	0,0014 ↑	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS	NS	0,0003 ↑	0,0098 ↑
CCA	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS	NS	NS	NS
CCP	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS	0,0016 ↑	< 0,0001 ↑	NS	NS	< 0,0001 ↑	NS
CIP	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS	NS	NS	< 0,0001 ↓	NS	0,0005 ↑	NS	0,0199 ↑	0,0006 ↑	0,0364 ↑
CIA	< 0,0001 ↑	< 0,0001 ↑	NS	< 0,0001 ↑	0,026 ↑	0,0387 ↓	NS	0,0032 ↑	NS	< 0,0001 ↓	< 0,0001 ↓	NS

**Figure 22 : puissance du signal EEG dans les différentes bandes de fréquence au cours de l'état de veille, du sommeil (N2, N3 et SP) et des micro-éveils.**



Pour chaque site anatomique, dans chaque bande de fréquence (BF) et pour chaque patient, la puissance du signal a été normalisée à travers les états de vigilance, de manière à pouvoir analyser ensemble les patients et à pouvoir comparer la puissance du signal (log) entre la veille, le SL N2, N3, le SP et les micro-éveils au cours de chacun de ces stades.

On peut noter que la somme des puissances delta + theta-alpha + sigma + beta dans chaque état n'est pas égale à 100% car la normalisation a été faite à travers les différents états de vigilance pour une BF donnée et non à travers les BF pour un état de vigilance donnée.

DELTA  
THETA-ALPHA  
SIGMA  
BETA

La puissance sigma fait référence à la BF 11-15HZ (et non spécifiquement aux fuseaux de sommeil)  
Les étoiles noires indiquent une augmentation et les étoiles blanches une diminution de la puissance du signal entre la veille et les ME (ANOVA à 2 facteurs, comparaisons post-hoc)

# DISCUSSION

Les principaux résultats de notre travail peuvent se résumer en trois points. Au niveau thalamique la composition spectrale du signal EEG au cours des ME est stéréotypée et correspond à un niveau de puissance intermédiaire entre la veille et le sommeil lent ou entre la veille et le sommeil paradoxal. Au niveau cortical, la composition spectrale du signal au cours des ME est bien différente puisque très hétérogène ; cette hétérogénéité est sous-tendue par le site anatomique considéré, le stade de sommeil au cours duquel un ME survient, le facteur déclenchant du ME et, pour le sommeil lent, par une régulation homéostatique. Enfin, la composition spectrale du signal EEG au cours des ME corticaux diffère de celle de la veille et ne correspond pas toujours à un état intermédiaire entre veille et sommeil.

## **1. Homogénéité des micro-éveils thalamiques**

Les ME thalamiques sont stéréotypés, et cette homogénéité s'observe aussi bien chez un même patient qu'au niveau de l'ensemble des patients. En sommeil lent, ils sont caractérisés par une diminution de la puissance du signal dans toutes les BF étudiées (de 0 à 30 Hz): cette diminution correspond principalement à un blocage des fuseaux et des activités plus lentes delta et thêta-alpha. Ceci traduit la capacité du thalamus à passer rapidement d'un mode de fonctionnement oscillant, au cours duquel les neurones thalamo-corticaux sont hyperpolarisés du fait des projections inhibitrices GABAergiques du noyau réticulaire et n'activent donc pas le cortex, à un mode de fonctionnement désynchronisé résultant de l'inhibition du noyau réticulaire par les voies essentiellement cholinergiques issues du tronc cérébral (Steriade, 2003). En sommeil paradoxal, la diminution de la puissance du signal au cours des ME est limitée aux fréquences delta à sigma : on observe en effet un blocage des périodes d'ondes lentes delta qui caractérisent l'activité du pulvinar médian au cours de ce stade (Magnin et al., 2004).



Il est important de noter que dans la présente étude, les enregistrements thalamiques ont exploré principalement le pulvinar médian (voir figure 5). Ce noyau thalamique est non spécifique, de type associatif, recevant des afférences de nombreuses aires corticales (aires sensorielles associatives, préfrontales, et cingulaires) sur lesquelles il est à même de se projeter (Trojanowski and Jacobson, 1975, Baleyrier and Mauguier, 1985, Pons and Kaas, 1985, Rosenberg et al., 2009). Ceci en fait un noyau crucial pour la communication cortico-thalamo-corticale (Benarroch, 2015, Shipp, 2003). Il ne constitue donc pas un relais direct majeur dans l'activation corticale à partir d'afférences périphériques (Bastuji et al., 2015). Cependant, comme les autres noyaux thalamiques, il contient des neurones GABAergiques et glutamatergiques, et reçoit des afférences GABAergiques du noyau réticulaire et cholinergiques des noyaux tegmentaux pediculopontin et laterodorsal (Benarroch, 2015). Ceci laisse supposer que son fonctionnement au cours de l'alternance des états de vigilance soit similaire à celui des autres noyaux thalamiques, et que son mode d'activation au cours des ME puisse être extrapolé aux autres noyaux thalamiques. Toutefois, l'observation de modifications de la composition spectrale (ondes lentes) au sein du cortex au cours des ME en SL avant même qu'une modification du signal dans le PuM ne soit visible suggère que d'autres noyaux thalamiques (relais) aient auparavant activé le cortex et que l'activation du pulvinar se soit produite dans un 2<sup>ème</sup> temps via des projections cortico-thalamiques. De plus, la persistance (rare) de fuseaux de sommeil dans certaines régions frontales alors qu'une activation du PuM est clairement visible suggère que des boucles reticulo-thalamo-corticales, impliquant en particulier des noyaux thalamiques dorso-médian et antérieur ventro-latéral, puissent conserver un mode de fonctionnement oscillant de sommeil lent alors que d'autres sont déjà l'objet d'une désynchronisation des rythmes. Ces observations sont en faveur de la possibilité sinon d'une dissociation, du moins d'une asynchronie d'activation des noyaux thalamiques.

Par ailleurs, l'étude de la durée des ME a montré que leur durée en sommeil paradoxal était distribuée de façon homogène dans un intervalle de 3 à 15 secondes, alors que ces durées en sommeil lent obéissaient à une distribution bi-modale centrée autour de 15 secondes et 7 secondes, que l'on considère l'ensemble de ME en SL ou les ME en N2 et en N3 séparément. On pourrait faire l'hypothèse que cette durée de 7 secondes soit liée à la durée moyenne de l'action post-synaptique des neuromodulateurs activant les neurones

thalamiques, ou à la latence de remise en jeu effective des systèmes promoteurs du sommeil.

## **2. Hétérogénéité des micro-éveils corticaux**

Contrairement au thalamus, le cortex montre des modes d'activation très variables, en fonction du stade de sommeil au cours duquel survient le ME, mais aussi du site anatomique considéré, du facteur déclenchant du ME et de facteurs homéostatiques.

### **2.1. Hétérogénéité en fonction du stade de sommeil**

**Les ME en sommeil lent** profond sont le plus souvent caractérisés par une diminution de la puissance du signal dans les BF lentes et rapides correspondant à une interruption des fuseaux de sommeil et à un blocage des ondes lentes delta. Néanmoins, les modifications de la composition spectrale de l'EEG au cours des ME restent extrêmement hétérogènes, pouvant associer de façon variable une augmentation ou une diminution des fréquences lentes ou rapides comparativement à l'état de sommeil préalable, souvent précédée par une réaction à ondes lentes dans les cortex associatifs. Cette hétérogénéité des ME en sommeil lent rejoint celle décrite par différentes équipes ayant étudié les ME sur l'EEG de scalp, et qui peut être synthétisée en terme de hiérarchie d'activation. Ainsi, il a été proposé que les complexes K, graphoéléments physiologiques typiques du stade 2 de sommeil lent, pouvaient être considérés comme des formes élémentaires d'éveil (Halasz, 1998), ayant des similitudes avec les potentiels évoqués, et traduisant une réponse du cortex à une stimulation (Niiyama et al., 1996). De plus, ils seraient associés à une activation du système sympathique (Hornyak et al., 1991). Les « delta-burst » ou « K-burst » (ou encore phase A1 du CAP ((Parrino et al., 2001)) correspondraient au niveau suivant, une forme de « pré-éveil » du cortex associée à une activation modérée du système nerveux autonome (SNA) (accélération de la fréquence cardiaque, augmentation de la pression artérielle) (Sforza et al., 2000, Lofaso et al., 1998). A ce stade, le cortex serait informé de la présence d'une stimulation, ayant engendré une réponse végétative, tout en préservant le sommeil. Le niveau d'activation supérieur serait l'apparition de phénomènes de désynchronisation EEG

(bouffées alpha à beta, phases A2 ou A3 du CAP) associés à une activation plus forte du SNA (Sforza et al., 2000). Les phases d'activation transitoire, avec comportement moteur associé, puis les réveils plus prolongés, sans retour à un état de sommeil, constitueraient les formes les plus intenses des phénomènes d'activation du cortex en sommeil lent (Schieber et al., 1971).

Nos résultats rejoignent ces données sur les modes d'activation corticaux observés au cours de ME. Toutefois, nous avons pu observer individuellement des patterns différents, plus rares, non mis en évidence par nos analyses statistiques, dont certains sont représentés **Figure 14**. Ainsi, nous avons pu identifier au cours de certains ME un blocage des OL et des rythmes rapides, visible aussi bien dans les cortex primaires que dans les cortex associatifs, et pour lesquels on peut faire l'hypothèse d'une augmentation concomitante des activités EEG plus rapides (gamma), non étudiées dans notre travail. Dans certains cas, nous avons pu observer un blocage isolé des fuseaux, reflétant vraisemblablement une rupture, au moins partielle, des oscillations thalamo-corticales, sans activation corticale supplémentaire et donc avec une persistance des oscillations lentes delta du sommeil lent. Ces observations ponctuelles, non intégrées dans la théorie d'un continuum hiérarchique et ascendant des réactions d'éveil détaillées ci-dessus, sont susceptibles de refléter des mécanismes intra-corticaux de régulation des ME, qui seront précisés ultérieurement.

**En sommeil paradoxal**, nous avons également observé différents modes d'activation corticale, bien que l'augmentation des fréquences thêta-alpha ait été le plus souvent mise en évidence. Ce résultat rejoint les données d'une étude de scalp de dans laquelle ont été associés ME et bouffées d'activité alpha (Cantero and Atienza, 2000). Ces auteurs ont en effet décrit la présence de bouffées alpha, d'une fréquence de 8-9Hz. Elles sont souvent brèves (2.8 secondes en moyenne), de topographie occipitale prédominante, associées au SP phasique ou tonique, et de distribution hétérogène au cours de la nuit, étant plus fréquentes au cours des deux derniers cycles de sommeil. Ils ont proposé que ces bouffées alpha pourraient correspondre à des ME « physiologiques », équivalents aux complexes K du sommeil lent, et permettre de maintenir l'individu en lien avec l'environnement ; ils les ont différenciés des ME plus longs et plus intenses, associés à une reprise du tonus musculaire, figurant dans la définition de l'ASDA. Il semblerait donc qu'au sein du sommeil paradoxal aussi on puisse établir une hiérarchie d'activation corticale, avec ou sans éveil moteur.

Ainsi, en sommeil lent comme en sommeil paradoxal, le cortex montre au cours des ME des modifications de la composition spectrale de l'EEG variables et graduelles ; toutes cependant sont associés à la même activation thalamique, ce qui suggère d'une part qu'on peut effectivement les définir comme des ME, et d'autre part qu'elles sont soumises à des facteurs de régulation intra-corticaux responsables de cette variabilité.

## **2.2. Hétérogénéité en fonction du cortex considéré : sommeil local**

En sommeil lent comme en sommeil paradoxal, nous avons observé une **hétérogénéité importante des modifications de la composition spectrale de l'EEG au cours des ME** à travers les aires corticales, dépendant donc vraisemblablement des spécificités anatomiques et fonctionnelles des cortex considérés. Nous avons ainsi pu identifier des modes d'activation « préférentiels » dans certains cortex. En sommeil lent, les ME sont le plus souvent caractérisés par une augmentation de la puissance des fréquences rapides (thêta à beta) dans les cortex sensorimoteurs primaires, alors que les ME dans les aires associatives du cortex fronto-pariétal dorso-latéral sont caractérisés par une activité plus lente mêlant ondes delta et rythmes thêta-alpha. En sommeil paradoxal, les ME sont caractérisés par une augmentation des fréquences rapides dans le cortex sensitif (mais pas moteur) primaire et l'insula antérieure, associée à une augmentation concomitante des fréquences delta dans les cortex pariétaux associatifs et le cortex cingulaire postérieur. En revanche, une diminution de la puissance spectrale du signal dans les bandes delta à beta est observée dans le cortex cingulaire antérieur dont l'activité métabolique est importante en sommeil paradoxal (Braun et al., 1997, Madsen et al., 1991).

Ces spécificités anatomiques dans les modes d'activation du cortex au cours des ME renvoient aux descriptions topographiques de certains rythmes EEG en lien avec l'état de vigilance. Ainsi, le rythme alpha est principalement enregistré en regard des dérivations pariéto-occipitales chez un sujet les yeux fermés dans un état de veille calme (Niedermeyer and Lopes da Silva, 1998). En sommeil lent, l'activité delta est plus ample dans les régions frontales, et les fuseaux de sommeil enregistrés dans les régions antérieures sont de fréquence plus lente et sont moins nombreux que ceux observés dans les régions postérieures (Niedermeyer and Lopes da Silva, 1998, Tinguely et al., 2006,

Peter-Derex et al., 2012, Andrillon et al., 2011). En sommeil paradoxal, la puissance du signal dans la bande thêta est plus importante dans les régions postérieures (Werth et al., 1996). Ces spécificités anatomiques peuvent refléter l'organisation cyto-architecturale et la connectivité du cortex, qui varient en fonction des aires corticales (Jones, 1981) ou encore l'interaction de ces régions corticales avec des noyaux thalamiques aux caractéristiques cellulaires électrophysiologiques différentes (phase d'hyperpolarisation plus longue au cours des fuseaux dans des neurones thalamo-corticaux projetant sur les régions antérieures par exemple (Steriade, 2003)).

Elles peuvent témoigner aussi de caractéristiques fonctionnelles de certains cortex ; en particulier il a été montré que la pression homéostatique, dont témoigne la puissance delta, était plus importante dans le cortex frontal (Cajochen et al., 1999) que dans les autres régions, mais qu'elle pouvait s'exercer de façon plus locale en fonction de l'activité préalable du cortex au cours de la veille (Huber et al., 2004). Enfin, le générateur des activations A1 du CAP a été localisé dans le cortex frontal alors que celui des phases A2 et A3 l'a été dans les régions pariéto-occipitales (Ferri et al., 2005).

Nous avons également observé une **grande variabilité dans la proportion d'aires cérébrales concernées par les ME**. Nous avons initialement entrepris, pour chaque ME, de quantifier le nombre de régions concernées, afin d'établir si le seuil d'activation différait entre les cortex étudiés et quelle proportion de ME pouvaient être considérés comme « locaux » (une seule aire cérébrale activée), « multi-locaux » (plusieurs aires activées) ou « globaux » (toutes les aires sont activées). Dans de rares cas l'activation thalamique semblait isolée. Dans d'autres, il était évident que tous les cortex enregistrés présentaient une modification du signal, quelle qu'elle fut. Parfois, la persistance de fuseaux dans certaines régions permettait de supposer qu'elles n'étaient pas concernées par le ME. Dans une majorité de cas, il était difficile visuellement d'établir avec certitude s'il y avait ou non une modification significative du signal, compte tenu des fluctuations physiologiques de celui-ci au cours du sommeil, et de ses modifications parfois subtiles au cours des ME, en particulier en SP. Enfin, nos contraintes d'enregistrement, i.e. S-EEG, avec électrodes placées en des sites précis, n'explorant pas l'ensemble du cortex, restreignaient nécessairement nos possibilité de conclure quant à la possibilité de ME strictement locaux. En étudiant l'activité EEG de scalp (Fz-Cz et Cz-Pz) enregistrée chez 5 de nos patients, nous avons observé qu'environ 14% des ME thalamiques ne s'accompagnaient pas d'une modification visible de l'EEG, ce qui laisse supposer que les

ME sous-corticaux (ou suffisamment locaux pour n'avoir pas de répercussion visible sur l'EEG de scalp) puissent être plus nombreux que les ME corticaux. Ce résultat est à pondérer par le faible échantillonnage de l'EEG de scalp qui ne nous permet pas d'exclure totalement qu'un ME ait pu être visible sur une autre dérivation. Il est cependant corroboré par l'observation de dissociation intra-thalamique dans l'activité des fuseaux que nous avons observé lorsque deux noyaux différents ont pu être enregistrés simultanément, et qui suggère une indépendance partielle de l'activité de ces noyaux au cours du sommeil.

Cette hétérogénéité, concernant à la fois la présence (ou l'absence) et le type d'activation au sein d'un cortex donné sont à mettre en lien avec les nombreux travaux ayant abordé ces dernières années la question des caractéristiques « locales » du sommeil. La possibilité d'états de vigilance dissociés a été rapportée dans des situations pathologiques comme les parasomnies : en effet la co-existence d'une activation du cortex cingulaire ou moteur et d'une désactivation du cortex fronto-pariétal dorso-latéral au cours d'un épisode de somnambulisme a été montré en imagerie SPECT et en S-EEG (Bassetti et al., 2000, Terzaghi et al., 2009, Terzaghi et al., 2012). Ce type de dissociation est aussi vraisemblablement susceptible de rendre compte de situations physiologiques comme la somnolence et l'inertie de sommeil. Il a été montré en effet chez la souris éveillée que des activités de veille et de sommeil pouvait être enregistrées de façon simultanée dans des aires corticales distinctes, et que cette dissociation s'accompagnait de conséquences comportementales à type de baisse des performances (Vyazovskiy et al., 2011, Vyazovskiy et al., 2014). Ces données font écho aux travaux sur le réveil séquentiel des structures sous-corticales puis des aires corticales décrit en IRMf (Balkin et al., 2002) et sur l'endormissement successif du thalamus, de l'hippocampe, puis des aires corticales les unes après les autres en S-EEG (Magnin et al., 2010, Sarasso et al., 2014). Ces données chez l'homme et l'animal convergent vers la conception du sommeil comme un état global mais hétérogène, composé potentiellement, au moins transitoirement, de micro-états locaux différents et discordants.

### **2.3. Hétérogénéité en fonction de la nature du stimulus.**

L'impact du stimulus, non seulement sur la survenue ou non d'un ME, mais aussi sur le mode d'activation du cortex lors du ME, a déjà été étudié. Kato et al., en analysant les

microéveils provoqués par des stimulations auditives et tactiles d'intensité variable, délivrées seules ou conjointement, au cours des différents stades de sommeil chez des sujets sains, ont rapporté que l'intensité du stimulus et l'association des stimuli étaient associées à la probabilité de survenue d'un ME et à son ampleur (Kato et al., 2004). De même il a été montré qu'en fonction de la durée et de l'intensité des stimulations auditives délivrées au cours du sommeil, il était possible de déclencher des activations variables, depuis une activation autonome avec accélération de la fréquence cardiaque ou de la pression artérielle sans ME visible sur l'EEG jusqu'au ME typique avec accélération des rythmes EEG (Martin et al., 1997b).

Dans notre étude, l'augmentation des fréquences rapides (thêta-alpha à beta) était plus importantes pour les ME induits par les stimulations nociceptives que pour les ME spontanés dans de nombreuses aires corticales. Cette observation suggère que les stimulations douloureuses induisent un niveau d'éveil plus important, ce qui est cohérent avec leur signification menaçante et donc le besoin de devoir éventuellement réagir rapidement. De manière intéressante, nous avons remarqué que ce niveau d'activation accru était observé non seulement dans le cortex sensorimoteur primaire, et dans les aires corticales dans lesquelles une réponse évoquée aux stimulations nociceptives était enregistrée, mais aussi de façon plus largement répartie dans le cortex fronto-pariétal dorso-latéral. Ceci qui est cohérent avec l'hypothèse de l'implication fonctionnelle d'un vaste réseau suite à une stimulation nociceptive (Bastuji et al., 2008, Bastuji et al., 2012). Cet effet du type de stimulation sur l'intensité de l'activation au cours des ME était visible essentiellement en sommeil lent, ce qui suggère une altération dans l'évaluation du caractère pertinent (ou menaçant) des stimulations, et dans la capacité à y répondre, au cours du sommeil paradoxal (Bastuji et al., 2012).

Ainsi, le facteur à l'origine du ME, dans son intensité et dans sa modalité, détermine en partie le mode d'activation au sein du continuum des modes d'activations possibles et donc du ratio ondes lents/rythmes rapides.

#### **2.4. Hétérogénéité liée au facteur homéostatique**

En sommeil lent, nous avons observé que la puissance delta du signal EEG était plus importante au cours du sommeil mais également au cours des ME durant les premiers cycles de sommeil. De plus, nous avons trouvé une corrélation entre la puissance delta



précèdent le ME et celle au cours du ME, dans les cortex associatifs mais aussi primaires, ce qui suggère une forme “d’inertie” des ondes lentes. Cette régulation homéostatique portant sur la composante lente delta a déjà été montrée pour les phases d’activation A1 du CAP, qui surviennent préférentiellement au cours des premiers cycles de sommeil, et plus particulièrement en leur début (Terzano et al., 1985, Parrino et al., 2001). Ce phénomène pourrait résulter soit de la prépondérance des mécanismes promoteurs du sommeil et responsables de la synchronisation de l’EEG sur les mécanismes d’éveil à l’échelle globale, soit de phénomènes de régulation plus locale (intra-corticaux, liés à l’activité neuronale (Krueger et al., 2008)) des ondes lentes.

Ainsi, nous avons observé une grande hétérogénéité des modes d’activation corticale au cours des ME, et identifié un certain nombre de déterminants de cette hétérogénéité. Toutefois, pour un cortex donné, au cours d’un stade donné, et suite à une stimulation similaire, des ME différents pouvaient encore être observés. Ceci suggère que d’autres facteurs que ceux décrits précédemment doivent être considérés. Parmi eux, le niveau d’excitabilité corticale au moment de la stimulation est susceptible d’intervenir. En effet, au cours du sommeil lent, au sein des périodes de relative désinhibition ou d’instabilité des systèmes d’éveil décrites par le CAP et pouvant durer plusieurs dizaines de secondes, les fluctuations de l’excitabilité corticale liées aux oscillations corticales lentes  $<1\text{H}$  pourraient jouer un rôle; en effet, la composante « UP » (dépolarisation neuronale) de ces ondes lentes représente un état favorable à la survenue des complexes K et des bouffées delta, mais aussi des rythmes plus rapides et pourrait donc constituer une « fenêtre » possible pour l’activation corticale (Steriade et al., 1993, Amzica and Steriade, 1997) (**Figure 2**). De plus, la propagation antéro-postérieure de cette oscillation lente, à l’origine d’une asynchronie entre certaines aires corticales, pourrait rendre compte de la survenue au même moment, de ME différents en terme de ratio ondes lentes/rythmes rapides dans des aires corticales distinctes ou du fait que seules certaines aires corticales sont concernées par les ME ce qui correspond alors à des ME locaux (Massimini et al., 2004). Enfin, des facteurs individuels pourraient également expliquer certaines différences, entre sujets sains. En effet, des spécificités individuelles au sein des rythmes EEG au cours du sommeil ont été décrites : en particulier, le spectre du signal dans les  $\text{BF} < 15\text{ Hz}$  est très variable d’un sujet à l’autre, mais très stable en revanche chez un sujet d’une nuit à l’autre, et peut être considéré comme une « empreinte » EEG du sommeil pour un individu donné (Buckelmuller et al., 2006). De



plus, la présence d'un déterminisme génétique dans la survenue de parasomnies comme le somnambulisme, qui est un trouble du réveil en sommeil lent profond, suggère une propension plus marquée chez certains individus à présenter des éveils dissociés, et donc une incapacité à se réveiller complètement et rapidement en sommeil lent (Zadra et al., 2013, Retey et al., 2005, Liciis et al., 2011). Il est intéressant de noter que les sujets somnambules présentent aussi une altération quantitative de la stabilité du sommeil en sommeil lent profond, mesurée par le CAP : chez ces patients en effet ont été rapportées une augmentation du taux de CAP et, selon les auteurs, une augmentation des phénomènes de synchronisation EEG au cours des ME (Zucconi et al., 1995, Guilleminault et al., 2006a).

### **3. Les ME ne sont pas des intrusions de veille au cours du sommeil**

Après avoir comparé le signal EEG au cours des ME à celui de l'état de sommeil préalable, nous l'avons comparé au signal EEG au cours de l'état de veille, en choisissant un état de veille « actif », après stimulation nociceptive. Notre objectif était de déterminer si les ME pouvaient être considérés comme un état de veille transitoire, s'ils constituaient un état intermédiaire entre veille et sommeil avec des niveaux de puissance spectrale intermédiaire entre ceux de la veille et ceux du sommeil, ou s'ils correspondaient à des états différents. Nos résultats ont montré que dans toutes les régions cérébrales étudiées, et pour tous les stades de sommeil, le signal au cours des ME différait de celui de la veille sauf pour le CMP, l'AMS et le cortex cingulaire pour les ME en SP. Ce résultat permet donc de considérer que le cerveau n'est pas véritablement « réveillé » au cours des ME. De plus, nous avons observé que, si dans le thalamus le signal au cours des ME était effectivement « entre » veille et sommeil, ce qui était également le cas pour la plupart des ME en N3 dans le cortex, les ME en N2 étaient différents dans de nombreuses régions corticales. En particulier, dans le cortex associatifs, la puissance delta au cours des ME était supérieure à celle mesurée pendant le sommeil. Par ailleurs, les puissances delta à beta étaient aussi supérieures à celles mesurées à l'état de veille, comme si les ME combinaient des niveaux de synchronisation

et de désynchronisation supérieurs à ceux des autres états de vigilance, traduisant ainsi la mise en jeu forte et brève de systèmes antagonistes.

La présence des bouffées d'activité delta en N2 est sans doute l'élément le plus surprenant. Cette observation avait déjà été rapportée dans les études d'EEG de scalp comme étant la forme d'activation minimale au cours d'un ME (Halasz, 1998, Sforza et al., 2000). Elle a aussi été décrite comme l'élément initial des ME dans le cortex préfrontal, associé à une activation plus « typique » par des rythmes rapides au niveau du CMP dans la seule autre étude ayant analysé les ME à l'aide d'enregistrements intracérébraux (Nobili et al., 2011). Cette bouffée delta initiale peut être considérée comme un approfondissement transitoire du sommeil ou au contraire comme une forme d'activation du cortex. En effet les « réactions à ondes lentes » faisant suite à des stimulations ont été décrites chez les enfants, ou dans des situations d'altération de la conscience chez les patients comateux, chez lesquels elles sont considérées comme marqueur de réactivité « paradoxale » (Binnie et al., 2003). Elles reflètent certaines propriétés intrinsèques du cortex (Connors et al., 1982), mises en jeu dans des situations de déafférentation partielle (Binnie et al., 2003) alors que la transition entre un tracé EEG de sommeil et un tracé désynchronisé de veille est vraisemblablement secondaire à la dépolarisation des neurones thalamocorticaux (Connors et al., 1982). Ce mode de réactivité « delta » en SL a été étudié plus récemment par Pigorini et al. (Pigorini et al., 2015). Ces auteurs, en appliquant des stimulations électriques sur le cortex de patients épileptiques bénéficiant d'enregistrements intra-crâniens, ont enregistré une onde lente stéréotypée, associée avec un état « OFF » reflétant sans doute un « down state » de l'activité neuronale, et suivi d'une rupture de la relation de phase entre les activités enregistrées dans différents sites corticaux. Cette diminution de la connectivité fonctionnelle, observée en réponse à une stimulation, pourrait résulter des propriétés bi-stables de certains neurones, et permettre de bloquer la propagation et le traitement plus élaboré de l'information afin de maintenir l'état de sommeil. Ainsi, cette réaction non spécifique du cortex en sommeil lent, susceptible d'être déclenchée par des stimulations corticales directes ou des afférences thalamo-corticales pourrait constituer un mécanisme majeur de protection du sommeil. Lorsqu'elle survient en réponse à une stimulation pertinente pour le sujet, elle pourrait aussi constituer un marqueur d'incapacité à se réveiller dans certaines situations physiologiques ou pathologiques.

Ainsi avons-nous montré que la présence de ces ondes lentes, type complexe K, en réaction à une stimulation auditive attendue délivrée au cours d'une sieste, était associée à l'incapacité du sujet à réagir et à mémoriser cette stimulation. Ce phénomène traduit un état d'inertie aiguë et s'est trouvé associé dans les conditions de ce test à une somnolence pathologique en relation avec une d'hypersomnie d'origine neurologique (narcolepsie et hypersomnie idiopathique) (Bastuji et al., 2003, Peter-Derex et al., 2013).

Au cours des ME en sommeil paradoxal, nos résultats suggèrent que les cortex associatifs restent endormis, alors que le cortex moteur reste activé. En effet, la puissance beta était plus forte dans le CSP et le CPM lors des ME que durant la veille et le sommeil paradoxal, traduisant un niveau d'activation plus important; en revanche, la persistance d'une puissance delta plus importante dans le cortex fronto-pariétal dorsolatéral suggère un état de désactivation persistante au sein des aires associatives (Maquet, 2000). L'absence de différence significative du signal dans le CMP et l'AMS entre les ME en SP et le SP d'une part, et les ME en SP et la veille d'autre part, suggère la persistance d'un état activé du cortex moteur au cours du sommeil paradoxal (Hess et al., 1987, Hong et al., 2009), susceptible de se traduire, lorsque les mécanismes responsables de l'atonie en SP dysfonctionnent, par des comportements moteurs complexes (Boeve et al., 2007, Arnulf, 2012).

Ces résultats sont donc en faveur de la conception des ME comme des phénomènes complexes et hétérogènes: le cerveau endormi est capable de présenter un large spectre de réactions d'éveil (McCormick and Bal, 1997), résultant de l'interaction entre deux nécessités fonctionnelles: celle de préserver le sommeil et celle de maintenir un lien avec l'environnement \_ et donc de traiter un minimum d'informations\_ de manière à pouvoir réagir en cas de danger potentiel (Halasz et al., 2004).

#### **4. Limites**

Notre travail repose sur l'analyse de tracés EEG enregistrés chez des patients épileptiques prenant des traitements anti-épileptiques, ce qui peut en théorie limiter la

généralisation de nos résultats à des sujets sains. En effet, certains traitements anti-épileptiques modifient la structure du sommeil (Shvarts and Chung, 2013, Jain and Glauser, 2014). Cependant, ces modifications ne sont pas majeures, et chez nos patients, l'architecture globale du sommeil, les paramètres évaluant la qualité du sommeil, et les grapho-éléments physiologiques du sommeil étaient semblables à ceux décrits chez des sujets sains (Ohayon et al., 2004). Les traitements anti-épileptiques, de par leur effet sédatif, sont susceptibles d'augmenter le seuil d'éveil, et donc de diminuer l'index de ME, et leur sevrage au contraire pourrait augmenter globalement le nombre de ME. Toutefois, la quantification des ME n'était pas un des objectifs de notre travail, dans la mesure où une partie des ME était provoquée par des stimuli nociceptifs. Il est possible que les traitements anti-épileptiques aient pu modifier qualitativement les ME, cependant nos résultats sont cohérents avec l'ensemble des travaux réalisés chez les sujets sains (Halasz et al., 2004). Les sites d'enregistrement sélectionnés pour notre étude étaient spécifiquement choisis en dehors du foyer épileptogène; ainsi peu de fragments de tracés « paroxystiques » ont du être éliminés a posteriori pour les analyses. Enfin, les enregistrements intracérébraux en S-EEG chez ces patients constituent l'unique moyen d'avoir accès à l'activité de structures profondes, muettes sur l'EEG de scalp; ces techniques ont donc déjà été largement utilisées, dans le domaine du sommeil ou des sciences cognitives (Magnin et al., 2004, Nir et al., 2011, Bastuji et al., 2012, Peter-Derex et al., 2012, Nobili et al., 2011, Sarasso et al., 2014).

Nous n'avons pas analysé tous les ME enregistrés chez tous les patients, ce qui peut constituer un biais de sélection; certains n'ont pas été choisis car ils n'étaient pas associés à une activation thalamique claire, ou parce qu'ils survenaient au cours d'une décharge épileptique. De plus, nous souhaitions comparer le même nombre de ME dans chaque situation (stade de sommeil et trigger du ME). Enfin, le protocole même de stimulation était susceptible d'induire une modification du nombre de ME et de leur répartition au cours de la nuit. Cependant, l'ensemble des ME analysés (351 au total) nous semble un échantillon suffisamment conséquent pour permettre une description générale, sinon exhaustive, des différents modes d'activation au cours des ME. De plus, la sélection des ME basée sur l'activité thalamique nous paraissait un critère fiable et reproductible. En effet, l'activation thalamique est censée être présente de façon constante au cours des ME, à l'exception potentiellement de ceux induits par une stimulation corticales directe-telle qu'une décharge épileptique. De plus, la sélection des ME sur l'activité corticale nous paraissait plus complexe et subjective compte tenu de

l'hétérogénéité des ME corticaux déjà décrite dans les études de scalp (Halasz, 1998, Sforza et al., 2000).

Les stimulations laser n'étaient pas délivrées de façon homogène au cours de la nuit ; ainsi, les ME induits par les stimulations nociceptives étaient répartis principalement au cours des derniers cycles de sommeil. Il est donc possible que cette répartition non aléatoire ait pu induire un biais dans la comparaison des ME « laser » au ME « spontanés ». Cependant, ce biais aurait dû concerner principalement la composante homéostatique et donc de l'activité delta au cours des ME, contrairement à ce que nous avons observé, à savoir une différence sur les activités plus rapides.

Enfin, il est important de noter que, pour des raisons techniques, nous avons limité nos analyses aux fréquences entre 0.5 et 30Hz ; nous n'avons donc pas étudié les fréquences gamma, qui sont assurément un marqueur important de l'état d'éveil et dont l'étude spécifique pourrait faire l'objet d'un travail ultérieur.

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'enregistrement simultané des micro-éveils dans le thalamus et le cortex nous a permis de montrer qu'une activation sous-corticale stéréotypée était associée à une grande variété de modifications de la composition spectrale de l'EEG, soumise à de nombreux facteurs de régulation et témoignant d'un état fonctionnel très changeant. Ces données sont en accord avec les théories d'Halasz sur l'extrême variabilité des réactions d'éveil et leur signification, mécanismes anti-éveils ou facteurs de fragmentation du sommeil (Halasz et al., 2004). Leur brièveté, et le retour à un état de sommeil traduisent la mise en jeu de processus permettant d'élever rapidement le niveau d'éveil du sujet endormi, tout en lui laissant la possibilité de se rendormir (Halasz, 1993, Hirshkowitz, 2002).

Notre travail fournit une description précise et assez exhaustive des modes d'activation corticale en terme de composition spectrale du signal. Néanmoins, la question de la dynamique temporelle d'activation, au sein d'une aire corticale et entre aires corticales reste à étudier; on peut cependant faire l'hypothèse soit d'une propagation des ME depuis les aires primaires jusqu'aux aires associatives, soit d'une activation ascendante non spécifique qui se traduirait de façon quasi-synchrone sur l'ensemble des cortex. Alors que nous n'avons étudié que les premières secondes des ME, reflétant la « sortie » du sommeil, la comparaison de leur durée selon les différentes régions corticales et l'analyse de la dynamique du signal jusqu'au retour au sommeil permettraient d'analyser plus précisément les mécanismes qui mettent fin au ME. De même, il serait intéressant de comparer le signal au cours du sommeil avant et après un ME, potentiellement différent du fait d'un niveau d'activation résiduelle: cet état « post-activé » pourrait expliquer le fait que chez nos patients les stimulations délivrées durant de stade N3 du SL déclenchaient certes un ME mais aussi un allègement du sommeil avec transition vers le SL N2, susceptible de favoriser le réveil complet avec une plus grande probabilité de réveil lors d'une prochaine stimulation.

D'un point de vue pratique, notre travail pose la question de la pertinence de la définition des ME proposée par l'ASDA (1992) et communément utilisée dans les centres de sommeil pour l'interprétation des enregistrements polysomnographiques. En effet,

nous avons montré que les ME composés d'ondes lentes de façon prédominante étaient associés à la même activation thalamique que les ME plus « typiques ». Les ME étant considérés comme responsables d'une fragmentation du sommeil et ayant un impact fonctionnel diurne en terme de somnolence et de fonctionnement cognitif, il pourrait être pertinent d'évaluer si les ME « delta » sont eux aussi délétères ; si tel était le cas, il serait logique de les prendre en compte lors de l'interprétation des enregistrements de sommeil. Un élément de réponse réside dans le fait les ME associés à une activation du système nerveux autonome (SNA), en dehors d'une activation EEG « typique », voire sans activation corticale visible, ont un impact sur l'humeur et la somnolence (Martin et al., 1997b), bien que de façon moindre que les ME définis selon l'ASDA. Aussi, une étude plus spécifique de l'impact des différents modes d'activation au cours des ME, sur différents tests cognitifs et sur la somnolence, permettrait-elle peut-être d'affiner de façon utile notre définition des différents types de ME.

Enfin, d'un point de vue physiopathologique, l'étude des ME pourrait permettre de mieux comprendre certaines parasomnies, et éventuellement de les diagnostiquer avec davantage de certitude, les patients admis pour un enregistrement de sommeil dans ce contexte présentant rarement un épisode d'éveil dissocié (en particulier de somnambulisme) durant l'hospitalisation. Il a été montré en effet que le somnambulisme était associé à une instabilité du sommeil sans que les caractéristiques des ME aient pu être définies de façon univoque (Zucconi et al., 1995, Bruni et al., 2008, Espa et al., 2000, Guilleminault et al., 2006a, Broughton, 1968) On peut donc supposer que ces caractéristiques, en terme de composition spectrale, de répartition spatiale, et de durée, soient différentes chez les sujets somnambules et non somnambules; ainsi, l'étude systématique des ME sélectionnés par l'activité thalamique chez des sujets épileptiques bénéficiant d'enregistrements SEEG et présentant ou non des antécédents personnels ou familiaux de somnambulisme, pourrait-elle permettre de déterminer des paramètres discriminants susceptibles d'être utilisés comme outils diagnostiques.

« Se réveiller ou rester endormi ? » ; notre cerveau doit répondre à cette question plusieurs dizaines de fois par nuit. Il le fait de façon variable et adaptée via les ME qui satisfont cette double exigence : protéger le sommeil et les fonctions qui lui sont associées, tout en permettant au dormeur de traiter les informations pertinentes afin de limiter sa vulnérabilité.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARISTOTE. Opuscles. Traité du Sommeil et de la Veille. Περὶ ὕπνου καὶ ἐγρηγόρσεως. Traduction Française : Barthélémy Saint-Hilaire. Paris: Ladrance, 1866.
1992. EEG arousals: scoring rules and examples: a preliminary report from the Sleep Disorders Atlas Task Force of the American Sleep Disorders Association. *Sleep*, 15, 173-84.
- ACHERMANN, P. & BORBELY, A. A. 1997. Low-frequency (< 1 Hz) oscillations in the human sleep electroencephalogram. *Neuroscience*, 81, 213-22.
- ACHERMANN, P. & BORBELY, A. A. 2003. Mathematical models of sleep regulation. *Front Biosci*, 8, s683-93.
- ADAMANTIDIS, A. R., ZHANG, F., ARAVANIS, A. M., DEISSEROTH, K. & DE LECEA, L. 2007. Neural substrates of awakening probed with optogenetic control of hypocretin neurons. *Nature*, 450, 420-4.
- ALDRICH, M. 1990. Sleep continuity and excessive daytime sleepiness in sleep apnea. *Sleep Research*, 19, 178 (abstract).
- AMZICA, F. & STERIADE, M. 1997. The K-complex: its slow (<1-Hz) rhythmicity and relation to delta waves. *Neurology*, 49, 952-9.
- ANDRILLON, T., NIR, Y., STABA, R. J., FERRARELLI, F., CIRELLI, C., TONONI, G. & FRIED, I. 2011. Sleep spindles in humans: insights from intracranial EEG and unit recordings. *J Neurosci*, 31, 17821-34.
- ARNULF, I. 2012. REM sleep behavior disorder: motor manifestations and pathophysiology. *Mov Disord*, 27, 677-89.
- BALEYDIER, C. & MAUGUIERE, F. 1985. Anatomical evidence for medial pulvinar connections with the posterior cingulate cortex, the retrosplenial area, and the posterior parahippocampal gyrus in monkeys. *J Comp Neurol*, 232, 219-28.
- BALKIN, T. J., BRAUN, A. R., WESENSTEN, N. J., JEFFRIES, K., VARGA, M., BALDWIN, P., BELENKY, G. & HERSCOVITCH, P. 2002. The process of awakening: a PET study of regional brain activity patterns mediating the re-establishment of alertness and consciousness. *Brain*, 125, 2308-19.
- BANCAUD, J. & TALAIRACH, J. 1973. Stereotactic approach to epilepsy: Methodology of anatomo-functional stereotaxic investigations. *Prog Neurol Surg* 5, 297-35.
- BASSETTI, C., VELLA, S., DONATI, F., WIELEPP, P. & WEDER, B. 2000. SPECT during sleepwalking. *The Lancet*, 356, 484-485.
- BASTUJI, H., FROT, M., MAZZA, S., PERCHET, C., MAGNIN, M. & GARCIA-LARREA, L. 2015. Thalamic Responses to Nociceptive-Specific Input in Humans: Functional Dichotomies and Thalamo-Cortical Connectivity. *Cereb Cortex*.
- BASTUJI, H., MAZZA, S., PERCHET, C., FROT, M., MAUGUIERE, F., MAGNIN, M. & GARCIA-LARREA, L. 2012. Filtering the reality: Functional dissociation of lateral and medial pain systems during sleep in humans. *Hum Brain Mapp*, 33, 2638-49.
- BASTUJI, H., PERCHET, C., LEGRAIN, V., MONTES, C. & GARCIA-LARREA, L. 2008. Laser evoked responses to painful stimulation persist during sleep and predict subsequent arousals. *Pain*, 137, 589-99.



- BASTUJI, H., PERRIN, F. & GARCIA-LARREA, L. 2003. Event-related potentials during forced awakening: a tool for the study of acute sleep inertia. *J Sleep Res*, 12, 189-206.
- BENARROCH, E. E. 2015. Pulvinar: associative role in cortical function and clinical correlations. *Neurology*, 84, 738-47.
- BERGER, H. 1929. Electroencephalogram in humans. *Arch. Psychiatr. Nervenkr.*, 527-570.
- BINNIE, C. D., COOPER, R., MAUGUIERE, F., OSSELTON, J., PRIOR, P. F. & TEDMAN, B. M. 2003.
- EEG, Paediatric Neurophysiology, Special Techniques and Applications. *Clinical Neurophysiology*.
- BOEVE, B. F., SILBER, M. H., SAPER, C. B., FERMAN, T. J., DICKSON, D. W., PARISI, J. E., BENARROCH, E. E., AHLISKOG, J. E., SMITH, G. E., CASELLI, R. C., TIPPMAN-PEIKERT, M., OLSON, E. J., LIN, S. C., YOUNG, T., WSZOLEK, Z., SCHENCK, C. H., MAHOWALD, M. W., CASTILLO, P. R., DEL TREDICI, K. & BRAAK, H. 2007. Pathophysiology of REM sleep behaviour disorder and relevance to neurodegenerative disease. *Brain*, 130, 2770-88.
- BONNET, M. H. 1985. Effect of sleep disruption on sleep, performance, and mood. *Sleep*, 8, 11-9.
- BONNET, M. H. & ARAND, D. L. 2003. Clinical effects of sleep fragmentation versus sleep deprivation. *Sleep Med Rev*, 7, 297-310.
- BONNET, M. H. & ARAND, D. L. 2007. EEG arousal norms by age. *J Clin Sleep Med*, 3, 271-4.
- BONNET, M. H., BERRY, R. B. & ARAND, D. L. 1991. Metabolism during normal, fragmented, and recovery sleep. *J Appl Physiol (1985)*, 71, 1112-8.
- BONNET, M. H., DOGHRAJJI, K., ROEHRS, T., STEPANSKI, E. J., SHELDON, S. H., WALTERS, A. S., WISE, M. & CHESSON, A. L., JR. 2007. The scoring of arousal in sleep: reliability, validity, and alternatives. *J Clin Sleep Med*, 3, 133-45.
- BORBELY, A. A. 1982. A two process model of sleep regulation. *Hum Neurobiol*, 1, 195-204.
- BORBELY, A. A. & ACHERMANN, P. 1999. Sleep homeostasis and models of sleep regulation. *J Biol Rhythms*, 14, 557-68.
- BOSELLI, M., PARRINO, L., SMERIERI, A. & TERZANO, M. G. 1998. Effect of age on EEG arousals in normal sleep. *Sleep*, 21, 351-7.
- BRAUN, A. R., BALKIN, T. J., WESENTEN, N. J., CARSON, R. E., VARGA, M., BALDWIN, P., SELBIE, S., BELENKY, G. & HERSCOVITCH, P. 1997. Regional cerebral blood flow throughout the sleep-wake cycle. An H<sub>2</sub>(15)O PET study. *Brain*, 120 (Pt 7), 1173-97.
- BROUGHTON, R. J. 1968. Sleep disorders: disorders of arousal? Enuresis, somnambulism, and nightmares occur in confusional states of arousal, not in "dreaming sleep". *Science*, 159, 1070-8.
- BROWN, R. E., BASHEER, R., MCKENNA, J. T., STRECKER, R. E. & MCCARLEY, R. W. 2012. Control of sleep and wakefulness. *Physiol Rev*, 92, 1087-187.
- BRUNI, O., FERRI, R., NOVELLI, L., FINOTTI, E., MIANO, S. & GUILLEMINAULT, C. 2008. NREM sleep instability in children with sleep terrors: the role of slow wave activity interruptions. *Clin Neurophysiol*, 119, 985-92.
- BUCKELMULLER, J., LANDOLT, H. P., STASSEN, H. H. & ACHERMANN, P. 2006. Trait-like individual differences in the human sleep electroencephalogram. *Neuroscience*, 138, 351-6.

- CAJOCHEN, C., FOY, R. & DIJK, D. J. 1999. Frontal predominance of a relative increase in sleep delta and theta EEG activity after sleep loss in humans. *Sleep Res Online*, 2, 65-9.
- CANTERO, J. L. & ATIENZA, M. 2000. Alpha burst activity during human REM sleep: descriptive study and functional hypotheses. *Clin Neurophysiol*, 111, 909-15.
- CARLEY, D. W., APPLEBAUM, R., BASNER, R. C., ONAL, E. & LOPATA, M. 1997. Respiratory and arousal responses to acoustic stimulation. *Chest*, 112, 1567-71.
- CARTER, M. E., YIZHAR, O., CHIKAHISA, S., NGUYEN, H., ADAMANTIDIS, A., NISHINO, S., DEISSEROTH, K. & DE LECEA, L. 2010. Tuning arousal with optogenetic modulation of locus coeruleus neurons. *Nat Neurosci*, 13, 1526-33.
- CONNORS, B. W., GUTNICK, M. J. & PRINCE, D. A. 1982. Electrophysiological properties of neocortical neurons in vitro. *J Neurophysiol*, 48, 1302-20.
- DAVIES, R. J., BENNETT, L. S. & STRADLING, J. R. 1997. What is an arousal and how should it be quantified? *Sleep Med Rev*, 1, 87-95.
- DE GENNARO, L., FERRARA, M. & BERTINI, M. 2001. EEG arousals in normal sleep: variations induced by total and selective slow-wave sleep deprivation. *Sleep*, 24, 673-9.
- DELAMONT, R. S., JULU, P. O. & JAMAL, G. A. 1999. Periodicity of a noninvasive measure of cardiac vagal tone during non-rapid eye movement sleep in non-sleep deprived and sleep-deprived normal subjects. *J Clin Neurophysiol*, 16, 146-53.
- DEMENT, W. & KLEITMAN, N. 1957. The relation of eye movements during sleep to dream activity: an objective method for the study of dreaming. *J Exp Psychol*, 53, 339-46.
- DOUGLAS, N. J. & MARTIN, S. E. 1996. Arousals and the sleep apnea/hypopnea syndrome. *Sleep*, 19, S196-7.
- DREWES, A. M., NIELSEN, K. D., ARENDT-NIELSEN, L., BIRKET-SMITH, L. & HANSEN, L. M. 1997. The effect of cutaneous and deep pain on the electroencephalogram during sleep--an experimental study. *Sleep*, 20, 632-40.
- EHRHART, J. & MUZET, A. 1974. [Frequency and duration of transitory activation phases during normal or disturbed sleep in man]. *Arch Sci Physiol (Paris)*, 28, 213-60.
- ESPA, F., ONDZE, B., DEGLISE, P., BILLIARD, M. & BESSET, A. 2000. Sleep architecture, slow wave activity, and sleep spindles in adult patients with sleepwalking and sleep terrors. *Clin Neurophysiol*, 111, 929-39.
- FEIGE, B., BAGLIONI, C., SPIEGELHALDER, K., HIRSCHER, V., NISSEN, C. & RIEMANN, D. 2013. The microstructure of sleep in primary insomnia: an overview and extension. *Int J Psychophysiol*, 89, 171-80.
- FERRARA, M., CURCIO, G., FRATELLO, F., MORONI, F., MARZANO, C., PELLICCIARI, M. C. & GENNARO, L. D. 2006. The electroencephalographic substratum of the awakening. *Behav Brain Res*, 167, 237-44.
- FERRI, R., BRUNI, O., MIANO, S. & TERZANO, M. G. 2005. Topographic mapping of the spectral components of the cyclic alternating pattern (CAP). *Sleep Med*, 6, 29-36.
- GUENOT, M., ISNARD, J., RYVLIN, P., FISCHER, C., OSTROWSKY, K., MAUGUIERE, F. & SINDOU, M. 2001. Neurophysiological monitoring for epilepsy surgery: the Talairach SEEG method. *StereoElectroEncephaloGraphy. Indications*,

- results, complications and therapeutic applications in a series of 100 consecutive cases. *Stereotact Funct Neurosurg*, 77, 29-32.
- GUILLEMINAULT, C., KIRISOGLU, C., DA ROSA, A. C., LOPES, C. & CHAN, A. 2006. Sleepwalking, a disorder of NREM sleep instability. *Sleep Med*, 7, 163-70.
- GUSNARD, D. A. & RAICHLE, M. E. 2001. Searching for a baseline: functional imaging and the resting human brain. *Nat Rev Neurosci*, 2, 685-94.
- HAAS, H. L. & LIN, J. S. 2012. Waking with the hypothalamus. *Pflugers Arch*, 463, 31-42.
- HALASZ, P. 1993. Arousals without awakening--dynamic aspect of sleep. *Physiol Behav*, 54, 795-802.
- HALASZ, P. 1998. Hierarchy of micro-arousals and the microstructure of sleep. *Neurophysiol Clin*, 28, 461-75.
- HALASZ, P., KUNDRA, O., RAJNA, P., PAL, I. & VARGHA, M. 1979. Micro-arousals during nocturnal sleep. *Acta Physiol Acad Sci Hung*, 54, 1-12.
- HALASZ, P., TERZANO, M., PARRINO, L. & BODIZS, R. 2004. The nature of arousal in sleep. *J Sleep Res*, 13, 1-23.
- HANLON, E. C., VYAZOVSKIY, V. V., FARAGUNA, U., TONONI, G. & CIRELLI, C. 2011. Synaptic potentiation and sleep need: clues from molecular and electrophysiological studies. *Curr Top Med Chem*, 11, 2472-82.
- HESS, C. W., MILLS, K. R., MURRAY, N. M. & SCHRIEFER, T. N. 1987. Excitability of the human motor cortex is enhanced during REM sleep. *Neurosci Lett*, 82, 47-52.
- HIRSHKOWITZ, M. 2002. Arousals and anti-arousals. *Sleep Med*, 3, 203-4.
- HONG, C. C., HARRIS, J. C., PEARLSON, G. D., KIM, J. S., CALHOUN, V. D., FALLON, J. H., GOLAY, X., GILLEN, J. S., SIMMONDS, D. J., VAN ZIJL, P. C., ZEE, D. S. & PEKAR, J. J. 2009. fMRI evidence for multisensory recruitment associated with rapid eye movements during sleep. *Hum Brain Mapp*, 30, 1705-22.
- HORNYAK, M., CEJNAR, M., ELAM, M., MATOUSEK, M. & WALLIN, B. G. 1991. Sympathetic muscle nerve activity during sleep in man. *Brain*, 114 ( Pt 3), 1281-95.
- HUBER, R., GHILARDI, M. F., MASSIMINI, M. & TONONI, G. 2004. Local sleep and learning. *Nature*, 430, 78-81.
- IBER C, A.-I. S., CHESSON A, QUAN SF, EDITORS. 2007. The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology, and technical specification. 1st ed. Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine.
- ISNARD, J. 2004. [Drug-resistant partial epilepsy. Invasive electrophysiological explorations]. *Rev Neurol (Paris)*, 160 Spec No 1, 5S138-43.
- JAIN, S. V. & GLAUSER, T. A. 2014. Effects of epilepsy treatments on sleep architecture and daytime sleepiness: an evidence-based review of objective sleep metrics. *Epilepsia*, 55, 26-37.
- JONES, E. 1981. Anatomy of cerebral cortex: columnar input-output organization. . In: SCHMITT FO, W. F., ADELMAN G, DENNIS SG EDITORS (ed.) *The organization of the cerebral cortex*. Cambridge (MA): MIT Press.
- JOUVET, M., MICHEL, F. & COURJON, J. 1959. [On a stage of rapid cerebral electrical activity in the course of physiological sleep]. *C R Seances Soc Biol Fil*, 153, 1024-8.
- KATO, T., MONTPLAISIR, J. Y. & LAVIGNE, G. J. 2004. Experimentally induced arousals during sleep: a cross-modality matching paradigm. *J Sleep Res*, 13, 229-38.

- KAUFMAN, L. S. & MORRISON, A. R. 1981. Spontaneous and elicited PGO spikes in rats. *Brain Res*, 214, 61-72.
- KRUEGER, J. M., RECTOR, D. M., ROY, S., VAN DONGEN, H. P., BELENKY, G. & PANKSEPP, J. 2008. Sleep as a fundamental property of neuronal assemblies. *Nat Rev Neurosci*, 9, 910-9.
- LEE, S. H. & DAN, Y. 2012. Neuromodulation of brain states. *Neuron*, 76, 209-22.
- LICIS, A. K., DESRUISSEAU, D. M., YAMADA, K. A., DUNTLEY, S. P. & GURNETT, C. A. 2011. Novel genetic findings in an extended family pedigree with sleepwalking. *Neurology*, 76, 49-52.
- LOFASO, F., GOLDENBERG, F., D'ORTHO, M. P., COSTE, A. & HARF, A. 1998. Arterial blood pressure response to transient arousals from NREM sleep in nonapneic snorers with sleep fragmentation. *Chest*, 113, 985-91.
- LOOMIS, A. L., HARVEY, E. N. & HOBART, G. A. 1937. Cerebral states during sleep, as studied by human brain potentials. *Journal of Experimental Psychology*, 21, 127-144.
- LUPPI, P. H., CLEMENT, O., SAPIN, E., PEYRON, C., GERVASONI, D., LEGER, L. & FORT, P. 2012. Brainstem mechanisms of paradoxical (REM) sleep generation. *Pflugers Arch*, 463, 43-52.
- LUPPI, P. H., GERVASONI, D., BOISSARD, R., VERRET, L., GOUTAGNY, R., PEYRON, C., SALVERT, D., LEGER, L., BARBAGLI, B. & FORT, P. 2004. Brainstem structures responsible for paradoxical sleep onset and maintenance. *Arch Ital Biol*, 142, 397-411.
- MADSEN, P. L., HOLM, S., VORSTRUP, S., FRIBERG, L., LASSEN, N. A. & WILDSCHIODTZ, G. 1991. Human regional cerebral blood flow during rapid-eye-movement sleep. *J Cereb Blood Flow Metab*, 11, 502-7.
- MAGNIN, M., BASTUJI, H., GARCIA-LARREA, L. & MAUGUIERE, F. 2004. Human thalamic medial pulvinar nucleus is not activated during paradoxical sleep. *Cereb Cortex*, 14, 858-62.
- MAGNIN, M., REY, M., BASTUJI, H., GUILLEMANT, P., MAUGUIERE, F. & GARCIA-LARREA, L. 2010. Thalamic deactivation at sleep onset precedes that of the cerebral cortex in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107, 3829-3833.
- MAQUET, P. 2000. Functional neuroimaging of normal human sleep by positron emission tomography. *J Sleep Res*, 9, 207-31.
- MAQUET, P., RUBY, P., SCHWARTZ, S., LAUREYS, S., ALBOUY, G., DANG-VU, T., DESSEILLES, M., BOLY, M., MELCHIOR, G. & PEIGNEUX, P. 2004. Regional organisation of brain activity during paradoxical sleep (PS). *Arch Ital Biol*, 142, 413-9.
- MARTIN, S. E., ENGLEMAN, H. M., KINGSHOTT, R. N. & DOUGLAS, N. J. 1997a. Microarousals in patients with sleep apnoea/hypopnoea syndrome. *J Sleep Res*, 6, 276-80.
- MARTIN, S. E., WRAITH, P. K., DEARY, I. J. & DOUGLAS, N. J. 1997b. The effect of nonvisible sleep fragmentation on daytime function. *Am J Respir Crit Care Med*, 155, 1596-601.
- MARZANO, C., MORONI, F., GORGONI, M., NOBILI, L., FERRARA, M. & DE GENNARO, L. 2013. How we fall asleep: regional and temporal differences in electroencephalographic synchronization at sleep onset. *Sleep Med*, 14, 1112-22.
- MASSIMINI, M., HUBER, R., FERRARELLI, F., HILL, S. & TONONI, G. 2004. The sleep slow oscillation as a traveling wave. *J Neurosci*, 24, 6862-70.

- MCCORMICK, D. A. & BAL, T. 1997. Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annu Rev Neurosci*, 20, 185-215.
- MCNAMARA, F., LIJOWSKA, A. S. & THACH, B. T. 2002. Spontaneous arousal activity in infants during NREM and REM sleep. *J Physiol*, 538, 263-9.
- MONTI, J. M. 2010. The structure of the dorsal raphe nucleus and its relevance to the regulation of sleep and wakefulness. *Sleep Med Rev*, 14, 307-17.
- MOREL, A., MAGNIN, M. & JEANMONOD, D. 1997. Multiarchitectonic and stereotactic atlas of the human thalamus. *J Comp Neurol*, 387, 588-630.
- NICOLAS, A. 1997. Microstructure du sommeil: physiologie. In: BENOIT O & F, G. (eds.) *Exploration du sommeil et de la vigilance chez l'adulte*. . Cachan: Editions Médicales Internationales.
- NIEDERMEYER, E. & LOPES DA SILVA, F. H. 1998. *Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields*. Baltimore: Williams & Wilkins.
- NIIYAMA, Y., SATOH, N., KUTSUZAWA, O. & HISHIKAWA, Y. 1996. Electrophysiological evidence suggesting that sensory stimuli of unknown origin induce spontaneous K-complexes. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 98, 394-400.
- NIR, Y., STABA, R. J., ANDRILLON, T., VYAZOVSKIY, V. V., CIRELLI, C., FRIED, I. & TONONI, G. 2011. Regional slow waves and spindles in human sleep. *Neuron*, 70, 153-69.
- NIR, Y. & TONONI, G. 2010. Dreaming and the brain: from phenomenology to neurophysiology. *Trends Cogn Sci*, 14, 88-100.
- NOBILI, L., FERRARA, M., MORONI, F., DE GENNARO, L., RUSSO, G. L., CAMPUS, C., CARDINALE, F. & DE CARLI, F. 2011. Dissociated wake-like and sleep-like electro-cortical activity during sleep. *Neuroimage*, 58, 612-9.
- OAKSON, G. & STERIADE, M. 1983. Slow rhythmic oscillations of EEG slow-wave amplitudes and their relations to midbrain reticular discharge. *Brain Res*, 269, 386-90.
- OBAL, F., JR. & KRUEGER, J. M. 2003. Biochemical regulation of non-rapid-eye-movement sleep. *Front Biosci*, 8, d520-50.
- OHAYON, M. M., CARSKADON, M. A., GUILLEMINAULT, C. & VITIELLO, M. V. 2004. Meta-analysis of quantitative sleep parameters from childhood to old age in healthy individuals: developing normative sleep values across the human lifespan. *Sleep*, 27, 1255-73.
- OSTROWSKY, K., MAGNIN, M., RYVLIN, P., ISNARD, J., GUENOT, M. & MAUGUIERE, F. 2002. Representation of pain and somatic sensation in the human insula: a study of responses to direct electrical cortical stimulation. *Cereb Cortex*, 12, 376-85.
- PARRINO, L., FERRI, R., BRUNI, O. & TERZANO, M. G. 2012. Cyclic alternating pattern (CAP): the marker of sleep instability. *Sleep Med Rev*, 16, 27-45.
- PARRINO, L., SMERIERI, A., ROSSI, M. & TERZANO, M. G. 2001. Relationship of slow and rapid EEG components of CAP to ASDA arousals in normal sleep. *Sleep*, 24, 881-5.
- PETER-DEREX, L., COMTE, J. C., MAUGUIERE, F. & SALIN, P. A. 2012. Density and frequency caudo-rostral gradients of sleep spindles recorded in the human cortex. *Sleep*, 35, 69-79.
- PETER-DEREX, L., MAGNIN, M. & BASTUJI, H. 2015. Heterogeneity of arousals in human sleep: A stereo-electroencephalographic study. *Neuroimage*, 123:229-44.



- PETER-DEREX, L., PERRIN, F., PETITJEAN, T., GARCIA-LARREA, L. & BASTUJI, H. 2013. Discriminating neurological from psychiatric hypersomnia using the forced awakening test. *Neurophysiol Clin*, 43, 171-9.
- PIGORINI, A., SARASSO, S., PROSERPIO, P., SZYMANSKI, C., ARNULFO, G., CASAROTTO, S., FECCHIO, M., ROSANOVA, M., MARIOTTI, M., LO RUSSO, G., PALVA, J. M., NOBILI, L. & MASSIMINI, M. 2015. Bistability breaks-off deterministic responses to intracortical stimulation during non-REM sleep. *Neuroimage*, 112, 105-13.
- PITSON, D. J. & STRADLING, J. R. 1998. Autonomic markers of arousal during sleep in patients undergoing investigation for obstructive sleep apnoea, their relationship to EEG arousals, respiratory events and subjective sleepiness. *J Sleep Res*, 7, 53-9.
- PONS, T. P. & KAAS, J. H. 1985. Connections of area 2 of somatosensory cortex with the anterior pulvinar and subdivisions of the ventroposterior complex in macaque monkeys. *J Comp Neurol*, 240, 16-36.
- POYARES, D., GUILLEMINAULT, C., ROSA, A., OHAYON, M. & KOESTER, U. 2002. Arousal, EEG spectral power and pulse transit time in UARS and mild OSAS subjects. *Clin Neurophysiol*, 113, 1598-1606.
- QIU, M. H., CHEN, M. C. & LU, J. 2015. Cortical neuronal activity does not regulate sleep homeostasis. *Neuroscience*, 297, 211-8.
- QIU, M. H., VETRIVELAN, R., FULLER, P. M. & LU, J. 2010. Basal ganglia control of sleep-wake behavior and cortical activation. *Eur J Neurosci*, 31, 499-507.
- RAICHEL, M. E., MACLEOD, A. M., SNYDER, A. Z., POWERS, W. J., GUSNARD, D. A. & SHULMAN, G. L. 2001. A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98, 676-82.
- RECHTSCHAFFEN, A. & KALES, A. 1968. *A Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System For Sleep Stage of Human Subjects (Brain Information Service/Brain research Institute, University of Californian Los Angeles, CA)*.
- RECTOR, D. M., TOPCHY, I. A., CARTER, K. M. & ROJAS, M. J. 2005a. Local functional state differences between rat cortical columns. *Brain Res*, 1047, 45-55.
- RECTOR, D. M., TOPCHY, I. A. & ROJAS, M. J. 2005b. Local cortical column activity states and localized delta wave differences. *Sleep*, 20, A26.
- REES, K., SPENCE, D. P., EARIS, J. E. & CALVERLEY, P. M. 1995. Arousal responses from apneic events during non-rapid-eye-movement sleep. *Am J Respir Crit Care Med*, 152, 1016-21.
- RETEY, J. V., ADAM, M., HONEGGER, E., KHATAMI, R., LUHMANN, U. F., JUNG, H. H., BERGER, W. & LANDOLT, H. P. 2005. A functional genetic variation of adenosine deaminase affects the duration and intensity of deep sleep in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 15676-81.
- REY, M., BASTUJI, H., GARCIA-LARREA, L., GUILLEMANT, P., MAUGUIERE, F. & MAGNIN, M. 2007. Human thalamic and cortical activities assessed by dimension of activation and spectral edge frequency during sleep wake cycles. *Sleep*, 30, 907-12.
- ROSENBERG, D. S., MAUGUIERE, F., CATENOIX, H., FAILLENOT, I. & MAGNIN, M. 2009. Reciprocal thalamocortical connectivity of the medial pulvinar: a depth stimulation and evoked potential study in human brain. *Cereb Cortex*, 19, 1462-73.
- ROSENBERG, D. S., MAUGUIERE, F., DEMARQUAY, G., RYVLIN, P., ISNARD, J., FISCHER, C., GUENOT, M. & MAGNIN, M. 2006. Involvement of medial

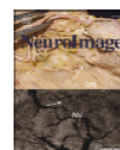
- pulvinar thalamic nucleus in human temporal lobe seizures. *Epilepsia*, 47, 98-107.
- ROY, S., KRUEGER, J. M., RECTOR, D. M. & WAN, Y. 2008. A network model for activity-dependent sleep regulation. *J Theor Biol*, 253, 462-8.
- SAPER, C. B., CHOU, T. C. & SCAMMELL, T. E. 2001. The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. *Trends Neurosci*, 24, 726-31.
- SAPER, C. B., FULLER, P. M., PEDERSEN, N. P., LU, J. & SCAMMELL, T. E. 2010. Sleep state switching. *Neuron*, 68, 1023-42.
- SARASSO, S., PROSERPIO, P., PIGORINI, A., MORONI, F., FERRARA, M., DE GENNARO, L., DE CARLI, F., LO RUSSO, G., MASSIMINI, M. & NOBILI, L. 2014. Hippocampal sleep spindles preceding neocortical sleep onset in humans. *Neuroimage*, 86, 425-32.
- SCHIEBER, J. P., MUZET, A. & FERRIERE, P. J. 1971. [Phases of spontaneous transitory activation during normal sleep in humans]. *Arch Sci Physiol (Paris)*, 25, 443-65.
- SFORZA, E., CHAPOTOT, F., PIGEAU, R., PAUL, P. N. & BUGUET, A. 2004. Effects of sleep deprivation on spontaneous arousals in humans. *Sleep*, 27, 1068-75.
- SFORZA, E., JOUNY, C. & IBANEZ, V. 2000. Cardiac activation during arousal in humans: further evidence for hierarchy in the arousal response. *Clin Neurophysiol*, 111, 1611-9.
- SFORZA, E., NICOLAS, A., LAVIGNE, G., GOSSELIN, A., PETIT, D. & MONTPLAISIR, J. 1999. EEG and cardiac activation during periodic leg movements in sleep: support for a hierarchy of arousal responses. *Neurology*, 52, 786-91.
- SHIPP, S. 2003. The functional logic of cortico-pulvinar connections. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 358, 1605-24.
- SHVARTS, V. & CHUNG, S. 2013. Epilepsy, antiseizure therapy, and sleep cycle parameters. *Epilepsy Res Treat*, 2013, 670682.
- SPATH-SCHWALBE, E., GOFFERJE, M., KERN, W., BORN, J. & FEHM, H. L. 1991. Sleep disruption alters nocturnal ACTH and cortisol secretory patterns. *Biol Psychiatry*, 29, 575-84.
- STEPANSKI, E., LAMPHERE, J., BADIA, P., ZORICK, F. & ROTH, T. 1984. Sleep fragmentation and daytime sleepiness. *Sleep*, 7, 18-26.
- STEPANSKI, E., LAMPHERE, J., ROEHRS, T., ZORICK, F. & ROTH, T. 1987. Experimental sleep fragmentation in normal subjects. *Int J Neurosci*, 33, 207-14.
- STEPANSKI, E. J. 2002. The effect of sleep fragmentation on daytime function. *Sleep*, 25, 268-76.
- STERIADE, M. 2000. Corticothalamic resonance, states of vigilance and mentation. *Neuroscience*, 101, 243-76.
- STERIADE, M. 2003. The corticothalamic system in sleep. *Front Biosci*, 8, d878-99.
- STERIADE, M. 2006. Grouping of brain rhythms in corticothalamic systems. *Neuroscience*, 137, 1087-106.
- STERIADE, M., CONTRERAS, D., CURRO DOSSI, R. & NUNEZ, A. 1993. The slow (< 1 Hz) oscillation in reticular thalamic and thalamocortical neurons: scenario of sleep rhythm generation in interacting thalamic and neocortical networks. *J Neurosci*, 13, 3284-99.
- SZYMUSIAK, R., GVILIA, I. & MCGINTY, D. 2007. Hypothalamic control of sleep. *Sleep Med*, 8, 291-301.
- SZYMUSIAK, R. & MCGINTY, D. 2008. Hypothalamic regulation of sleep and arousal. *Ann N Y Acad Sci*, 1129, 275-86.



- TERZAGHI, M., SARTORI, I., TASSI, L., DIDATO, G., RUSTIONI, V., LORUSSO, G., MANNI, R. & NOBILI, L. 2009. Evidence of dissociated arousal states during NREM parasomnia from an intracerebral neurophysiological study. *Sleep*, 32, 409-12.
- TERZAGHI, M., SARTORI, I., TASSI, L., RUSTIONI, V., PROSERPIO, P., LORUSSO, G., MANNI, R. & NOBILI, L. 2012. Dissociated local arousal states underlying essential clinical features of non-rapid eye movement arousal parasomnia: an intracerebral stereo-electroencephalographic study. *J Sleep Res*, 21, 502-6.
- TERZANO, M. G., MANCIA, D., SALATI, M. R., COSTANI, G., DECEMBRINO, A. & PARRINO, L. 1985. The cyclic alternating pattern as a physiologic component of normal NREM sleep. *Sleep*, 8, 137-45.
- TERZANO, M. G., PARRINO, L., BOSELLI, M., SMERIERI, A. & SPAGGIARI, M. C. 2000. CAP components and EEG synchronization in the first 3 sleep cycles. *Clin Neurophysiol*, 111, 283-90.
- TERZANO, M. G., PARRINO, L., ROSA, A., PALOMBA, V. & SMERIERI, A. 2002. CAP and arousals in the structural development of sleep: an integrative perspective. *Sleep Med*, 3, 221-9.
- TERZANO, M. G., PARRINO, L., SMERIERI, A., CARLI, F., NOBILI, L., DONADIO, S. & FERRILLO, F. 2005. CAP and arousals are involved in the homeostatic and ultradian sleep processes. *J Sleep Res*, 14, 359-68.
- TINGUELY, G., FINELLI, L. A., LANDOLT, H. P., BORBELY, A. A. & ACHERMANN, P. 2006. Functional EEG topography in sleep and waking: state-dependent and state-independent features. *Neuroimage*, 32, 283-92.
- TONONI, G. & CIRELLI, C. 2014. Sleep and the price of plasticity: from synaptic and cellular homeostasis to memory consolidation and integration. *Neuron*, 81, 12-34.
- TROJANOWSKI, J. Q. & JACOBSON, S. 1975. A combined horseradish peroxidase-autoradiographic investigation of reciprocal connections between superior temporal gyrus and pulvinar in squirrel monkey. *Brain Res*, 85, 347-53.
- VYAZOVSKIY, V. V., CUI, N., RODRIGUEZ, A. V., FUNK, C., CIRELLI, C. & TONONI, G. 2014. The dynamics of cortical neuronal activity in the first minutes after spontaneous awakening in rats and mice. *Sleep*, 37, 1337-47.
- VYAZOVSKIY, V. V. & FARAGUNA, U. 2015. Sleep and synaptic homeostasis. *Curr Top Behav Neurosci*, 25, 91-121.
- VYAZOVSKIY, V. V. & HARRIS, K. D. 2013. Sleep and the single neuron: the role of global slow oscillations in individual cell rest. *Nat Rev Neurosci*, 14, 443-51.
- VYAZOVSKIY, V. V., OLCESE, U., HANLON, E. C., NIR, Y., CIRELLI, C. & TONONI, G. 2011. Local sleep in awake rats. *Nature*, 472, 443-447.
- WERTH, E., ACHERMANN, P. & BORBELY, A. A. 1996. Brain topography of the human sleep EEG: antero-posterior shifts of spectral power. *Neuroreport*, 8, 123-7.
- WINKELMAN, J. W. 1999. The evoked heart rate response to periodic leg movements of sleep. *Sleep*, 22, 575-80.
- ZADRA, A., DESAUTELS, A., PETIT, D. & MONTPLAISIR, J. 2013. Somnambulism: clinical aspects and pathophysiological hypotheses. *Lancet Neurol*, 12, 285-94.
- ZUCCONI, M., OLDANI, A., FERINI-STRAMBI, L. & SMIRNE, S. 1995. Arousal fluctuations in non-rapid eye movement parasomnias: the role of cyclic

alternating pattern as a measure of sleep instability. *J Clin Neurophysiol*, 12, 147-54.

## **ANNEXES**



## Heterogeneity of arousals in human sleep: A stereo-electroencephalographic study



Laure Peter-Derex<sup>a,b,c,\*</sup>, Michel Magnin<sup>a</sup>, Hélène Bastuji<sup>a,c</sup>

<sup>a</sup> Lyon Neuroscience Research Center, Central Integration of Pain Lab, INSERM, U1028, CNRS, UMR5292, Université Claude Bernard, Bron, F-69677, France

<sup>b</sup> Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon Sud, Service de Neurologie-Sommeil, 165 chemin du grand Revoyet, 69495 Pierre-Benite, France

<sup>c</sup> Hospices civils de Lyon, Hôpital Neurologique, Unité d'hypnologie, Service de Neurologie fonctionnelle et d'épileptologie, Groupement Hospitalier Est, 59 boulevard Pinel, 69677 Bron, France

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 17 March 2015

Accepted 20 July 2015

Available online 26 July 2015

#### Keywords:

Sleep

Arousal

EEG

Cortex

Thalamus

Humans

### ABSTRACT

Wakefulness, non-rapid eye movement (NREM), and rapid eye movement (REM) sleep are characterized by specific brain activities. However, recent experimental findings as well as various clinical conditions (parasomnia, sleep inertia) have revealed the presence of transitional states. Brief intrusions of wakefulness into sleep, namely, arousals, appear as relevant phenomena to characterize how brain commutes from sleep to wakefulness. Using intra-cerebral recordings in 8 drug-resistant epileptic patients, we analyzed electroencephalographic (EEG) activity during spontaneous or nociceptive-induced arousals in NREM and REM sleep. Wavelet spectral analyses were performed to compare EEG signals during arousals, sleep, and wakefulness, simultaneously in the thalamus, and primary, associative, or high-order cortical areas. We observed that 1) thalamic activity during arousals is stereotyped and its spectral composition corresponds to a state in-between wakefulness and sleep; 2) patterns of cortical activity during arousals are heterogeneous, their manifold spectral composition being related to several factors such as sleep stages, cortical areas, arousal modality ("spontaneous" vs nociceptive-induced), and homeostasis; 3) spectral compositions of EEG signals during arousal and wakefulness differ from each other. Thus, stereotyped arousals at the thalamic level seem to be associated with different patterns of cortical arousals due to various regulation factors. These results suggest that the human cortex does not shift from sleep to wake in an abrupt binary way. Arousals may be considered more as different states of the brain than as "short awakenings." This phenomenon may reflect the mechanisms involved in the negotiation between two main contradictory functional necessities, preserving the continuity of sleep, and maintaining the possibility to react.

© 2015 Elsevier Inc. All rights reserved.

### Introduction

Three main states of vigilance are classically described in humans: wakefulness, non-rapid eye movement (NREM), and rapid eye movement (REM) sleep. They correspond to specific brain activities and different levels of perception and responsiveness. The regulation of cyclic changes and transitions between these states depends on circadian and homeostatic processes (Borbély, 1982). These processes are under the control of brainstem and diencephalon in which "sleep promoting" and "wake promoting" structures mutually inhibit each other (Saper

et al., 2001; Dang-Vu et al., 2010). The transition between wake and NREM sleep is characterized by a shift of EEG cortical activity from a low-amplitude high-frequency to a high-amplitude low-frequency mode, the so-called "EEG synchronization" which leads to a deactivated state (Steriade & McCarley, 1990; Steriade et al., 1990). During REM sleep, EEG activity is desynchronized whereas muscle tone is abolished and recurrent rapid eye movements sporadically occur. The states of vigilance appear to be very different and mutually exclusive. However, many clinical situations such as parasomnia, sleep inertia, paradoxical insomnia, and sleepiness, as well as recent experimental works, suggest that transitional or intermediary states can be in fact observed (Balkin et al., 2002; Magnin et al., 2010; Vyazovskiy et al., 2011, 2014).

The pioneering works described phasic brief phenomena disrupting the continuity of sleep, the so-called arousals (Schieber et al., 1971; Halasz et al., 1979). They correspond to abrupt and short shifts toward high EEG frequencies indicating a transient intrusion of wakefulness into sleep, or at least a sudden brief elevation of the level of vigilance. According to the American Sleep Disorders Association (ASDA) criteria, arousals are defined as abrupt EEG frequency shifts occurring after at least 10 s of stable sleep and lasting 3–15 s (ASDA, 1992). These brief intrusions of wake into sleep might reflect a compromise allowing to

**Abbreviations:** REM, Rapid eye movement; NREM, Non-rapid eye movement; EEG, Electroencephalography; S-EEG, Stereo-electroencephalography; EKG, Electrocardiogram; EOG, Electro-oculogram; TF, Time–frequency; PMC, Primary motor cortex; PSC, Primary somatosensory cortex; DLFC, Dorsolateral frontal cortex; DLPFC, Dorsolateral prefrontal cortex; MPC, Medial prefrontal cortex; SMA, Supplementary motor area; ACC, Anterior cingulate cortex; PCC, Posterior cingulate cortex; ASIC, Antero-superior insular cortex; PSIC, Postero-superior insular cortex; AIIIC, Antero-inferior insular cortex; PIIC, Postero-inferior insular cortex; PIC, Posterior insular cortex; AIC, Anterior insular cortex.

\* Corresponding author at: Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon Sud, Service de Neurologie-Sommeil, 165 chemin du grand Revoyet, 69495 Pierre-Benite, France.

E-mail address: [laure.peter-derex@chu-lyon.fr](mailto:laure.peter-derex@chu-lyon.fr) (L. Peter-Derex).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.07.057>  
1053-8119/© 2015 Elsevier Inc. All rights reserved.

preserve sleep continuity and to evaluate external/inner stimulations, and to modulate brain activation level within a given sleep stage. They also offer an opportunity to characterize the brain processes involved in the transition from one vigilance state (sleep) to another (transient wakefulness). Few studies have been devoted to physiological arousals. Some of them suggest that they are constitutive of the sleep structure itself (Mathur and Douglas, 1995; Boselli et al., 1998; Mathur and Douglas, 1995). Different types of arousals may occur, providing a hierarchy in levels of activation, from slow waves, including or not K-complexes, to fast rhythms which are not clearly mentioned in ASDA arousal definition (Schieber et al., 1971; Halasz, 1998; Halasz et al., 1979).

Different patterns of cortical arousals recorded on scalp EEG might correspond to various levels of cortical activation occurring either globally or differently in various cortical areas. The latter possibility was recently assessed by Nobili et al. (2011). During NREM sleep, they observed simultaneous wake-like (fast activity) and sleep-like (slow activity) patterns in primary motor and dorsolateral prefrontal cortices, respectively. This report of the coexistence of different patterns of activation in two distinct cortical areas suggests the presence of a broader heterogeneity among a larger sample of different functional cortical areas. This heterogeneity in arousal process has also been proposed in terms of hierarchical activation, with a continuous spectrum in the arousal processing, based on behavioral, EEG, and autonomic criteria, originating from the brainstem and progressing to cortical areas (Sforza et al., 1999, 2000; Chouchou et al., 2011; Halasz et al., 2004). Most studies on arousals were focused on NREM sleep; given the dramatically different activity of the thalamus and the cortex during REM sleep (Magnin et al., 2004), it can be hypothesized that arousal processes differ between these two structures during this sleep stage. Moreover, within NREM sleep, regulation processes such as homeostasis influence not only the presence but also the pattern of activation during arousals (Sforza et al., 2004; De Gennaro et al., 2001; Terzano et al., 1985; Parrino et al., 2001). Lastly, the quality of the stimulus triggering arousal, be it internal or external and of various modalities, affects the resulting pattern of activation (Kato et al., 2004). Using intra-cerebral recordings in 8 drug-resistant epileptic patients, we analyzed EEG activity during spontaneous, i.e., for which no trigger could be identified, or nociceptive-induced arousals during NREM and REM sleep. Wavelet spectral analyses were performed to compare arousal EEG activities in the thalamus, and primary, associative, or high-order cortical areas with those recorded during sleep and wakefulness. We aimed at describing cortical patterns of activation associated with thalamic arousals, and at comparing such “micro-states” with sleep and wakefulness. We show that 1) in the thalamus, EEG activity during arousals is stereotyped with a spectral composition intermediate between wakefulness and sleep;

2) in the cortex, patterns of activity during arousals are heterogeneous, the diversity of patterns being related to several factors such as sleep stage, anatomical localization, arousal trigger, and homeostasis; 3) cortical activity during arousal differs from that of wakefulness.

## Materials and methods

### Patients

Eight patients suffering from focal (mostly temporal) refractory epilepsy were included in this study (Table 1). To delineate the extent of the cortical epileptogenic area and plan a tailored surgical treatment, depth EEG electrodes were implanted according to the stereotactic technique of Bancaud and Talairach (1973) (Guenot et al., 2001). The choice of cortical anatomic targets was guided by data from non-invasive investigations (clinical history, video-scalp-EEG monitoring, morphologic MRI, [18F]-fluorodeoxyglucose positron emission tomography). The most often explored areas were limbic structures (hippocampus, amygdala), sensorimotor primary, insular, cingular, and fronto-parietal dorsolateral cortices (for a complete description of the rationale of electrode implantation, see Isnard, 2004). The thalamus, and more specifically the medial pulvinar nucleus (PuM), was a target of stereotactic implantation because it might be an important relay in the propagation of epileptic discharges, given its reciprocal connections with temporal cortical areas (Rosenberg et al., 2006). Explorations of temporal neocortical areas and PuM were possible using a single multi-contact electrode, so that thalamic exploration did not increase the risk of the procedure by requiring an additional electrode track specifically devoted to the PuM activity recording. Anti-epileptic drugs were tapered down in order to increase the occurrence probability of spontaneous seizures (Table 1). In agreement with the French legislation relative to invasive investigations with a direct individual benefit, patients were fully informed about electrode implantation and stereotactic EEG recordings. The laser stimulation paradigm was submitted to, and approved by, the local ethics committee (CPP Léon Bérard – Lyon, Authorization No. 22236S). Patients gave written informed consent after being aware that nocturnal laser stimuli were not a part of the diagnostic procedure but performed for research purposes. The present work was supported by a grant from the French Sleep Research and Medicine Society.

### Electrode implantation and anatomical localization of recording sites

The electrode implantation procedure was carried out using multiple contact electrodes introduced into the brain perpendicular to the

**Table 1**  
Clinical and demographic characteristics of the patients.

Patient	Gender	Age (years)	Medication (mg/d)	Hemisphere	Selected areas for sleep study	Epileptogenic zone	MRI
1	M	20	Valproate 1500 Levetiracetam 1000 Carbamazepin 400	L	Thalamus, PSC, PMC, SMA, DLFC, DLPC, ACC, ASIC, PSIC, AIIC	Left posterior temporal neocortex	Normal
2	M	19	None	R	Thalamus, PSC, PMC, DLFC, ACC, ASIC, PSIC, AIIC, PIIC	Right temporal medial lobe	Normal
3	F	37	Carbamazepin 600 Pregabalin 75	L	Thalamus, PMC, DLFC, DLPC, MPC, SMA, ACC, PCC, ASIC, PIIC	Left temporal medial lobe	Left hippocampus atrophy
4	M	21	Carbamazepin 800 Valproate 500 Clobazam 10	R + L	Thalamus, DLPC, MPC, PCC, PIIC	Right fronto-orbital cortex	Diffuse malformative aspect
5	F	23	Levetiracetam 2000 Lamotrigine 800	F	Thalamus, DLPC, PCC, MPC	Left temporal medial lobe	Left hippocampus atrophy + occipito-temporal dysplasia
6	M	26	Carbamazepin 200 Lamotrigine 200 Pregabalin 75	L	Thalamus, PMC, DLFC, SMA, ACC, ASIC, AIIC, PIIC	Left temporal medial lobe	Left hippocampus atrophy
7	F	51	Oxcarbazepin 600 Clobazam 10	R	Thalamus, PSC, DLFC, ASIC, AIIC	Right temporal neocortex	Right temporal dysplasia
8	M	21	Topiramate 200 Oxcarbazepin 900 Lamotrigine 400	R+L	Thalamus, PSC, PMC, DLFC, DLPC, MPC, PCC	Right temporal neocortex	Right fronto-temporal polymicrogyria

ACC = anterior cingulate cortex; AIIC = antero-inferior insular cortex; ASIC = antero-superior insular cortex; DLFC = dorso-lateral frontal cortex; DLPC = dorso-lateral parietal cortex; MPC = medial parietal cortex; PCC = posterior cingulate cortex; PMC = primary motor cortex; PIIC = postero-inferior insular cortex; PSC = primary somatosensory cortex; PSIC = postero-superior insular cortex; SMA = supplementary motor area.



midsagittal plane with a stereotactic frame. Each platinum–iridium electrode had a diameter of 0.8 mm and contained 5–15 recording contacts (2 mm long, spaced by 1.5 mm; Dixi, Besançon, France). The stereotactic implantation procedure was derived from the one first described by Bancaud and Talairach (1973) and is detailed in Ostrowsky et al. (2002). Anatomical localization of the cortical electrodes contacts was counterchecked using post-implantation MRI when available (six patients) or using fusion of skull X-ray after electrode implantation with the appropriate MR slices of the patient's brain (MRicro software) (Rorden and Brett, 2000). In each patient, stereotactic coordinates of cortical contacts were reported within the anatomical model of normal brain proposed by the McConnell Brain Imaging Center of the Montréal Neurological Institute (MNI), McGill University (<http://www.bic.mni.mcgill.ca/brainweb/>). Superimposition of cortical contacts on the MNI brain template was performed using a MATLAB routine (Fig. 1). The placement of the contacts within the thalamus was assessed using Morel's atlas of the human thalamus (Morel et al., 1997) (Fig. 1).

#### Laser stimulation procedure

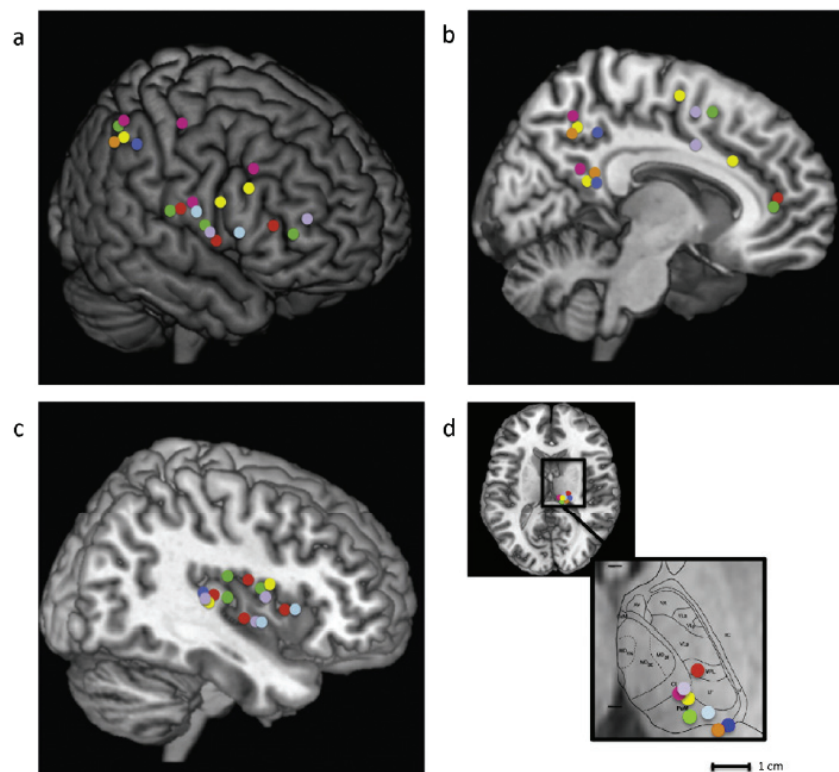
As previous studies using nociceptive stimuli during sleep have reported clear awakening properties of such stimulations, we decided

to study arousal following standardized laser stimulations (Drewes et al., 1997; Bastuji et al., 2008). Laser stimulation protocol is detailed in Bastuji et al. (2012). Briefly, series of stimuli were delivered from a laser stimulator through an optic fiber on the dorsum of the hand, contralateral to the implanted hemisphere. The intensity was kept stable for any given subject during the whole night, and fixed above nociceptive threshold (= minimal laser energy producing a pricking sensation in at least two of three stimuli). Nociceptive thresholds were obtained with energy densities ranging from 50 to 79 mJ/mm<sup>2</sup>.

Laser stimulation sessions started first during wakefulness, then after a minimum of 20 min of continuous sleep and ended up to 6:00 AM. Identification of the different sleep stages (NREM N1, N2, or N3, and REM sleep) was done online by one of the investigators (HB) expert in sleep studies, allowing thus laser stimuli to be specifically applied during each sleep stage. If one stimulus awoke the sleeper, the stimuli were immediately discontinued. Laser stimulations during N3 sleep stage almost always induced a shift to light sleep, limiting thus our data to spontaneous arousals during this stage.

#### Data acquisition

Night sleep recordings under stereo-EEG (S-EEG) video monitoring were conducted in the patient's own room at least 5 days after electrode



**Fig. 1.** Recording contact locations represented on MNI Brain template and Morel's thalamic atlas. Each color correspond to a given patient as referred in Table 1. a. Primary motor cortex (n = 5); primary somatosensory cortex (n = 4); dorso-lateral frontal cortex (n = 6); dorso-lateral parietal cortex (n = 5). b. Medial parietal cortex (n = 4); supplementary motor area (n = 3); anterior cingulate cortex (n = 4); posterior cingulate cortex (n = 4). c. Antero-superior insular cortex (n = 5); Postero-superior insular cortex (n = 2); antero-inferior insular cortex (n = 3); postero-inferior insular cortex (n = 5). d. Thalamic nuclei: PuM = medial pulvinar (n = 5), CL = central lateral (n = 2), VPL = ventral postero-lateral (n = 1). The two horizontal lines indicate the positions of the anterior and posterior commissures. D 7.2: horizontal plane 7.2 mm dorsal to the horizontal inter-commissural plane.

implantation. S-EEG signals were obtained using both referential and bipolar modes with MICROMED® software (Treviso, Italy) (sampling frequency: 256 Hz; band pass filter: 0.53–128 Hz; 32 dB/octave). The reference electrode was chosen for each patient on an implanted contact located in the skull. Blinks and saccades were recorded with two electro-oculograms (EOG) electrodes placed on the supero- and infero-lateral right canthus. EOG, electrocardiogram (EKG), and video were recorded continuously during the night.

#### Signal analysis

##### Sleep and arousal scoring

S-EEG derivations selected for sleep and arousal analysis were outside the lesional lobe when MRI was abnormal, free of epileptic interictal spikes, and not involved in the initiation or propagation of seizures. Sleep stages were visually scored using 30 s epochs by two of the authors (HB and LPD) trained in scoring intra-cerebral sleep, using AASM criteria adapted to intra-cerebral recordings (Iber et al., 2007; Magnin et al., 2004; Rey et al., 2007). Sleep characteristics are presented Table 2. According to the ASDA standard definition, arousals are defined as an abrupt EEG frequency shift which may include theta, alpha, and/or frequency greater than 16 Hz except spindles, lasting 3–15 s, following 10 s of stable sleep (ASDA, 1992). As no submental EMG recording was available, detection of arousals during REM sleep was based upon an unequivocal transient EEG modification. Nevertheless, whatever the sleep stage considered, for a large majority of arousals, either an increase of EMG signal on the EKG derivation or video-recorded patient's movements confirmed arousals detection.

While patterns of activation during arousals were clearly heterogeneous in the cortex on visual analysis, those of the thalamus were highly reproducible in a given sleep stage. This reproducibility remained consistent when considering either nociceptive-induced or "spontaneous" arousals, i.e., arousals for which no trigger could be identified. Thus, we decided to perform arousals detection considering thalamic activity. Up to ten thalamic arousals for each patient were considered in each following condition: nociceptive-induced arousals during N2 and REM sleep, and "spontaneous" arousals during N2, N3, and REM sleep (Fig. 2). The criteria for selection of arousals, following 10 s of stable baseline period, lasting 3–15 s, and not followed by a switch of sleep stage, restricted the amount of nociceptive-induced arousals to be analyzed. Thus, we decided to also limit the number of analyzed spontaneous arousals ( $n = 10$ ), in order to homogenize comparisons between patients and conditions.

##### Time-frequency analysis

To compare S-EEG signals before and during arousals, 30 s epochs were extracted from the recordings, centered either on laser stimulation for nociceptive-induced arousals or on visual detection of arousal onset for "spontaneous" arousals (BRAIN ANALYSER® software).

- \* Time-frequency (TF) analysis of S-EEG signals was performed using Morlet wavelet transform between 0.5 and 30 Hz (step size = 1 s; frequency resolution = 0.5 Hz;  $\omega$  (average frequency of the mother

wavelet) = 5 Hz;  $\sigma$  (width of the Gaussian envelope used to localize the wavelet function in time) = 0.15 s) (LETSWAVE® software). Mean signal power were calculated in the delta [0.5–4 Hz], theta + alpha [4.5–10.5 Hz], sigma [11–15 Hz], and beta [15.5–30 Hz] bands. Pooling theta and alpha bands in the analysis was supported by the previously described shift of wake fundamental rhythm from alpha to theta frequency following awakening or preceding sleep onset (Marzano et al., 2013; Ferrara et al., 2006).

- \* Time window for spectral power analysis: In order to analyze EEG modifications during arousal, appropriate time windows needed to be defined for baseline pre-arousal sleep and the two types (spontaneous, nociceptive-induced) of arousals.

–Nociceptive-induced arousals: To study the first 3 s (minimal duration) of nociceptive-induced arousals and since arousal latency after stimulus was  $1 \pm 0.5$  s (mean  $\pm$  sd) in NREM sleep and  $0.9 \pm 0.4$  s in REM sleep (Bastuji et al., 2008), we focused our analysis on a 4 s time window starting 1 s after the laser stimulus ([1; 5 s] window). Doing this way prevents to include in the analyses persistent sleep signal, present between the stimulus and the beginning of the arousal and matched with the visually detected "core" of the arousal. Corresponding baseline pre-arousal sleep time window started 15 s before and ended at the time of the laser stimulation ([−15; 0 s] window) (see Supplementary data 1a).

–For "spontaneous" arousals, we first decided to analyze baseline pre-arousal sleep EEG signals applying a 15 s time window, which ended at the visual onset of the arousal in the thalamus ([−15; 0 s] window). The time window dedicated to the arousal itself began at the arousal onset as detected in the thalamus ( $t = 0$ ) and lasted 5 s ([0; 5 s] window). This time-window seemed appropriate to detect main signal modification during arousal, when visual analysis of TF representation of REM sleep arousals was performed. However, the TF representation of NREM "spontaneous" arousals showed an early delta frequency increase in several cortical areas that occurred 1–2 s before thalamic activation. Such enhancement of slow wave activity in one cortical area beginning immediately before the activation in another one had previously been reported by Nobili et al. (2011). Therefore, to take into account this phenomenon, i.e., to study the main modifications of the signal during the first 3 s of arousal despite the asynchrony of cortical area involvement in arousals, we defined two more appropriate time windows: a baseline sleep time window lasting from −15 to −2 s before the arousal ([−15; −2 s] window) and an arousal time window starting 2 s before and ending 3 s after the onset of the thalamic arousal ([−2; 3 s] window) (see Supplementary data 1b).

- Lastly, to compare arousal signal with wakefulness, TF analysis was performed on EEG signal during 5 s following nociceptive stimulation delivered during quiet wakefulness before light off.

##### Statistic analysis

GRAPHPAD PRISM® software was used for statistical analysis. A  $p$  value  $< 0.05$  was considered as statistically significant.

**Signal power comparisons.** First, power values of in each frequency band in all selected anatomic sites during time windows of interest (baseline and arousal), in all vigilance stages and two arousal triggers (spontaneous or nociceptive-induced arousal) were calculated using LETSWAVE® software. Afterwards, power values were normalized as follows: in each patient and for each anatomic location, 100% corresponded to the highest value of signal power in a given frequency band among the different stages of vigilance. Thus, pooled data of all patients could be further analyzed. Before multiple comparisons with two-way ANOVA, power values were log transformed ( $Y' = \log(Y + 1)$ ) in order to approach normal distribution. Comparisons of signal power between baseline and arousal were performed in each stage of vigilance (NREM N2, NREM N3, and REM) in each anatomic site using repeated-

**Table 2**  
Sleep characteristics in patients ( $n = 8$ ).

	Mean	Std. deviation
Total sleep period (min)	414.3	60.7
Time in bed (min)	431.3	63.2
Sleep latency (min)	17	13.18
Wake after sleep onset (min)	45.38	28.81
Total sleep time (TST) (min)	368.9	60.23
Sleep efficacy (%)	88.75	6.319
Slow wave sleep (% TST)	23	8.177
REM sleep (%TST)	20.38	5.927
REM sleep latency (min)	70.25	10.29



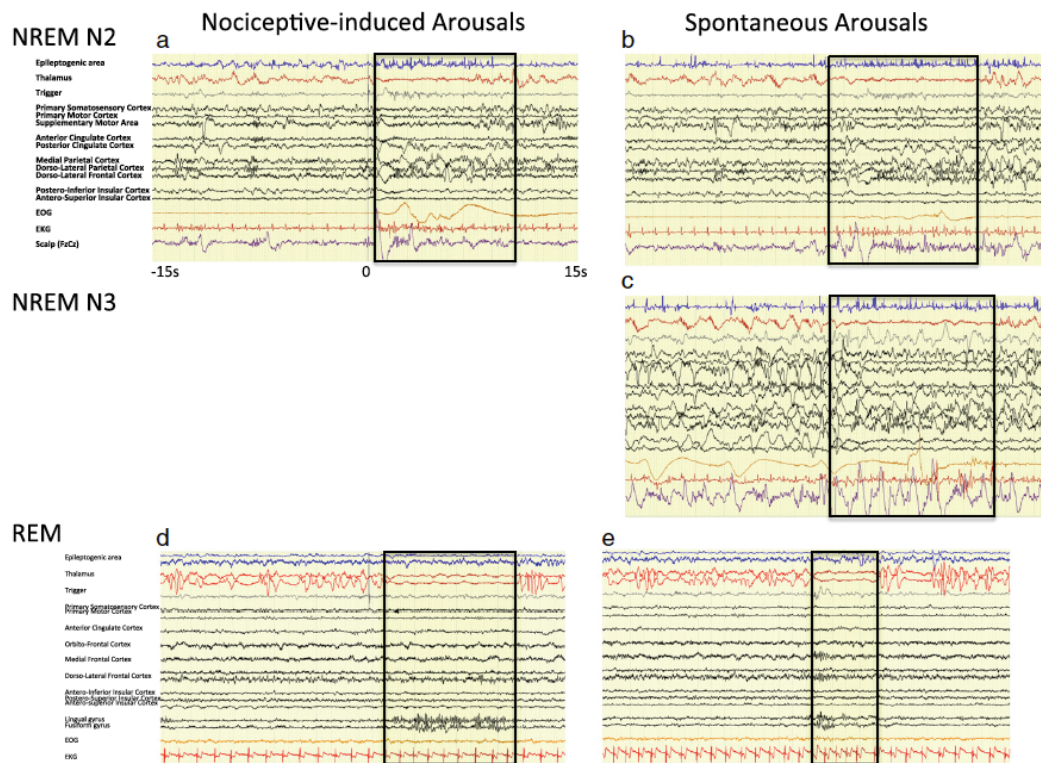


Fig. 2. Examples of S-EEG recorded arousals. *a*, Nociceptive-induced arousal during N2 (patient 3); vertical grey line: laser stimulus onset. *b*, Spontaneous arousal during N2 (patient 3). *c*, Spontaneous arousal during N3 (patient 3). *d*, Nociceptive-induced during REM (patient 2). *e*, Spontaneous arousal during REM (patient 2). Note that no N3 nociceptive-induced arousal was available for analysis, laser stimulations delivered in N3 almost systematically inducing a transition from N3 to N2. For patient 3, scalp electrodes (Fz, Cz, and Pz) were available. Amplitude scale (EEG, EOG, EKG) = 400  $\mu\text{V}/\text{cm}$  except for the thalamus and insular cortex (150  $\mu\text{V}/\text{cm}$ ).

measures ANOVA with two within factors: frequency band (delta/theta-alpha/sigma/beta) and condition (baseline/arousal); Sidak correction for multiple comparisons was applied. Comparisons between spontaneous and nociceptive-induced arousals were performed for NREM N2 and REM, using two-way mixed ANOVA with one within factor (frequency band) and one between factor (subtraction of nociceptive or spontaneous arousal from baseline); Sidak correction for multiple comparisons was applied. Comparisons of signal power between wakefulness and arousals were performed in each anatomic location using two-way mixed ANOVA with one within factor (frequency band) and one between factor (state of vigilance: post-stimulation wakefulness/NREM N2 spontaneous arousal/NREM N3 spontaneous arousal/REM spontaneous arousal); Tukey correction for multiple comparisons was applied.

**Arousal duration.** The duration of each thalamic arousal was visually determined on S-EEG signal. Comparisons between NREM sleep and REM sleep arousal duration was performed using a Mann–Whitney test.

**Homeostasis.** NREM arousals were classified for each patient, according to sleep cycles. After normalization, mean  $\pm$  sem delta power during baseline and arousal was calculated for each sleep cycle. The correlation between sleep cycle and baseline (or arousal) delta power was analyzed using a linear regression. Afterwards, the correlation between baseline

and arousal delta power was analyzed using a linear regression with values of delta power (baseline and arousal) for each arousal.

## Results

During NREM sleep, 206 arousals were analyzed. This sampling includes 63 laser-induced and 143 spontaneous arousals, the latter being observed during stages N2 and N3 in 79 and 64 cases, respectively. Examples of NREM arousals are shown in Fig. 2a, b, and c. During REM sleep, 145 arousals, 65 laser induced and 80 spontaneous, were considered. Examples of REM arousals are shown in Fig. 2d and e. NREM arousals were significantly longer than REM arousals ( $9.5 \text{ s} \pm 0.3 \text{ s}$  vs  $8.6 \pm 0.3 \text{ s}$  (mean  $\pm$  sem), Mann–Whitney,  $p < 0.05$ ).

### Patterns of activation during arousals

#### Thalamic patterns of activation during arousals

Thalamic EEG activity during arousals exhibited a high intra- and inter-patient reproducibility.

- NREM sleep: Comparisons between frequency band powers before and during arousals showed a decrease in all frequency bands during arousals occurring either in NREM N2 or N3 (Fig. 3).

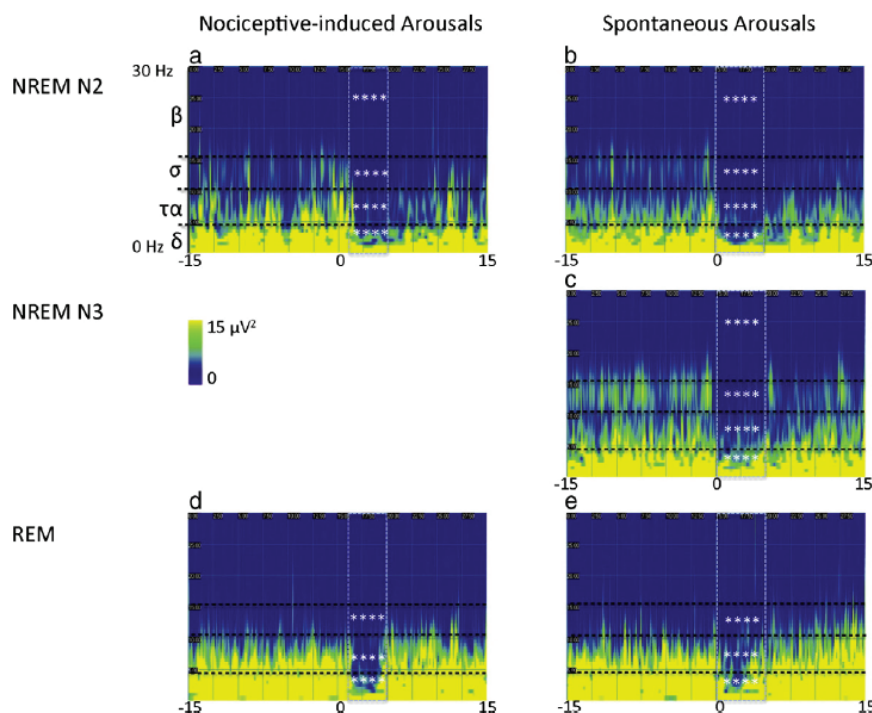


Fig. 3. Time–frequency representations of thalamic activity during arousals. Arousals are characterized by significant power decreases in all frequency bands considered during NREM but limited to delta, theta + alpha, and sigma frequency bands during REM sleep (two-way ANOVA, post hoc comparisons, white stars indicate a significant decrease,  $p < 0.0001$  \*\*\*\*). a. Laser-induced arousal during N2. b. Spontaneous arousal during N2. c. Spontaneous arousal during N3. d. Nociceptive-induced arousal during REM. e. Spontaneous arousal during REM. No nociceptive-induced arousal could be obtained in N3. Each time–frequency representation is a grand average of the mean time–frequency analyses of the 8 patients ( $n = 10$  arousals for each of the five a–e conditions per patient). Time window for arousal analysis is represented as a light blue line box (spontaneous arousals: [0; +5 s] window, and nociceptive-induced arousals: [+1; +5 s] window). Baseline corresponds to the foregoing signal window.

- N2, spontaneous-induced arousals: significant effect of time ( $F(1, 79) = 273.3$ ,  $p < 0.0001$ ) and of frequency bands ( $F(3, 237) = 12.65$ ,  $p < 0.0001$ ) with an interaction ( $F(3, 237) = 11.53$ ,  $p < 0.0001$ ); post hoc analysis: all frequency bands,  $p < 0.0001$ ).
- N2, nociceptive-induced arousals: significant effect of time (before/during arousal) ( $F(1, 63) = 77.94$ ,  $p < 0.0001$ ) and of frequency bands ( $F(3, 189) = 8.475$ ,  $p < 0.0001$ ) with an interaction ( $F(3, 189) = 12.36$ ,  $p < 0.0001$ ); post hoc analysis: all frequency bands,  $p < 0.0001$ ).
- N3, spontaneous arousals: significant effect of time ( $F(1, 63) = 218.5$ ,  $p < 0.0001$ ) and of frequency bands ( $F(3, 189) = 13.09$ ,  $p = 0.0001$ ) with an interaction ( $F(3, 189) = 17.02$ ,  $p < 0.0001$ ); post hoc analysis: all frequency bands,  $p < 0.0001$ ).
- REM sleep: a similar decrease was also observed during arousals arising in the course of REM sleep but limited to delta, theta + alpha, and sigma frequency bands.
- REM, spontaneous-induced arousals: significant effect of time ( $F(1, 79) = 91.43$ ,  $p < 0.0001$ ) and of frequency bands ( $F(3, 237) = 60.74$ ,  $p < 0.0001$ ) with an interaction ( $F(3, 237) = 84.62$ ,  $p < 0.0001$ ); post hoc analysis: delta to sigma  $p < 0.0001$ , beta ns).
- REM, nociceptive-induced arousals: significant effect of time (before/during arousal) ( $F(1, 65) = 66.99$ ,  $p < 0.0001$ ) and of frequency bands ( $F(3, 195) = 32.81$ ,  $p < 0.0001$ ) with an interaction ( $F(3, 195) = 87.61$ ,  $p < 0.0001$ ); post hoc analysis: delta to sigma  $p < 0.0001$ , beta ns).

#### Cortical patterns of activation during arousals

**NREM sleep.** Detailed ANOVA results for N3 NREM sleep arousals are presented in Table 3 and results for N2 NREM sleep arousals are presented in Table 4a and b.

- During N3 arousals, a decrease in delta power was observed in all recorded cortical areas (Fig. 4). However, delta decrease was absent in 40% of the selected arousals, mainly in frontal but also in parietal dorsolateral cortices. During the latter, either an absence of signal modification (spindles were nevertheless most often—but not always—blocked) (20% of the cases; see Supplementary data 2) or a paradoxical high-amplitude rhythmic slow wave activity (20% of the cases; see Supplementary data 3) was observed. Decrease in spindle activity was the other constant feature of N3 arousals.
- During N2 arousals, especially spontaneous ones, cortical patterns of activation exhibited a high inter- and intra-patient heterogeneity (Fig. 5). For a given patient and a same cortical area, either increase or decrease of slow and/or fast rhythms could be observed throughout a series of arousals. In some cases, even no detectable modification of the signal could be noted (Fig. 6). The blockage of the spindles (sigma band) was the most consistent feature with few exceptions, particularly in DLFC. Nevertheless, three main patterns of activation could be observed, allowing an anatomical classification: 1) An increase in high frequencies (from theta to beta), observed in PSC, PMC, AIC; 2) An increase in delta to alpha frequencies observed in

**Table 3**  
Results of two-way ANOVA for N3 arousals in cortical area.

N3 arousals (spontaneous)							
ANOVA results				Post hoc (p and variation)			
Time effect	Frequency band effect	Interaction		Delta	Theta-alpha	Sigma	Beta
PSC	F (1, 25) = 33.52; p < 0.0001	F (3, 75) = 59.86; p < 0.0001	F (3, 75) = 2.74; NS	0.0138 ↓	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓
PMC	F (1, 37) = 17.22; p = 0.0002	F (3, 111) = 42.57; p < 0.0001	F (3, 111) = 1.248; NS	<0.0001 ↓	0.0018 ↓	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓
SMA	F (1, 27) = 86.38; p < 0.0001	F (3, 81) = 13.21; p < 0.0001	F (3, 81) = 2.826; p = 0.0438	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓
DLFC	F (1, 43) = 14.22; p = 0.0005	F (3, 129) = 55.89; p < 0.0001	F (3, 129) = 5.575; p = 0.0013	0.0446 ↓	NS	0.0063 ↓	<0.0001 ↓
DLPC	F (1, 49) = 16.50; p = 0.0002	F (3, 147) = 11.81; p < 0.0001	F (3, 147) = 3.385; p = 0.0199	<0.0001 ↓	NS	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓
MPC	F (1, 49) = 13.99; p = 0.0005	F (3, 147) = 7.903; p < 0.0001	F (3, 147) = 2.604; NS	<0.0001 ↓	NS	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓
ACC	F (1, 27) = 51.14; p < 0.0001	F (3, 81) = 6.258; p = 0.0007	F (3, 81) = 4.962; p = 0.0033	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓
PCC	F (1, 39) = 16.80; p = 0.0002	F (3, 117) = 40.33; p < 0.0001	F (3, 117) = 2.575; NS	0.0017 ↓	NS	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓
PIC	F (1, 37) = 31.61; p < 0.0001	F (3, 111) = 1.897; NS	F (3, 111) = 18.53; p < 0.0001	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓	0.0438 ↓	NS
AIC	F (1, 41) = 27.78; p < 0.0001	F (3, 123) = 38.88; p < 0.0001	F (3, 123) = 1.669; NS	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓

DLPC, MPC, and DLFC (spontaneous arousals); 3) An increase in low and high frequencies (delta to sigma–beta) observed in PCC and DLFC (nociceptive-induced arousals). In SMA, ACC, and PIC, no significant main pattern of activation emerged from statistical analyses.

**REM sleep.** Detailed ANOVA results for REM sleep arousals are presented Table 5a and b.

During REM sleep, according to anatomic localization, three main patterns of cortical activity could be observed, too, depending on anatomical cortical areas (Fig. 7): 1) an increase in high frequencies (theta to beta in PSC; sigma to beta in AIC); 2) an increase in almost all low and high frequencies (delta to sigma in DLPC; delta to beta on MPC and PCC); 3) a decrease in fast frequencies (theta to beta) in ACC (spontaneous arousals) and PIC associated with a decrease in delta in ACC for nociceptive-induced arousals only. In PMC, SMA, and DLFC, no significant main pattern of activation emerged from statistical analyses.

Local arousals were seldom observed in REM sleep, too.

#### Arousal trigger effect

The trigger inducing the arousal played a role in the heterogeneity of cortical arousals (Table 6a and b).

- \* In N2, clear differences between nociceptive-induced and “spontaneous” arousals were observed in PMC, PSC, AIC, DLFC, and DLPC: particularly, increase in theta to beta frequency bands was larger for nociceptive-induced than for spontaneous arousals in these areas.
- \* In REM sleep, trigger effect was observed only in medial parietal cortex, where greater increase in high (sigma band) frequencies was observed for nociceptive-induced than for spontaneous arousals.

#### Homeostasis

The homeostatic sleep regulation process can be assessed by delta power quantification during NREM sleep, which is an EEG correlate of

**Table 4**  
Results of two-way ANOVA for N2 arousals in cortical area (Table 4a: spontaneous arousals; Table 4b: nociceptive-induced arousals).

a.							
N2 arousals (spontaneous)							
ANOVA results				Post hoc (p and variation)			
Time effect	Frequency band effect	Interaction		Delta	Theta-alpha	Sigma	Beta
PSC	F (1, 39) = 2.056; NS	F (3, 117) = 0.5501; NS	F (3, 117) = 2.17; NS	/	/	/	/
PMC	F (1, 49) = 0.080; NS	F (3, 147) = 12.35; p < 0.0001	F (3, 147) = 1.385; NS	/	/	/	/
SMA	F (1, 29) = 0.0337; NS	F (3, 87) = 13.09; p < 0.0001	F (3, 87) = 7.220; 0.0002	/	/	/	/
DLFC	F (1, 59) = 26.90; p = 0.0027	F (3, 177) = 13.42; p < 0.0001	F (3, 177) = 8.308; p < 0.0001	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑	NS	NS
DLPC	F (1, 49) = 0.0356; NS	F (3, 147) = 49.63; p < 0.0001	F (3, 147) = 20.08; p < 0.0001	/	/	/	/
MPC	F (1, 49) = 1.765; NS	F (3, 147) = 30.10; p < 0.0001	F (3, 147) = 29.03; p < 0.0001	/	/	/	/
ACC	F (1, 39) = 1.859; NS	F (3, 117) = 7.425; p < 0.0001	F (3, 117) = 7.369; p = 0.0001	/	/	/	/
PCC	F (1, 39) = 3.093; NS	F (3, 117) = 14.25; p < 0.0001	F (3, 117) = 1.247; NS	/	/	/	/
PIC	F (1, 59) = 0.9154; NS	F (3, 177) = 56.23; p < 0.0001	F (3, 177) = 5.826; p = 0.0008	/	/	/	/
AIC	F (1, 66) = 5.003; p = 0.0287	F (3, 198) = 15.19; p < 0.0001	F (3, 198) = 3.297; p = 0.0215	NS	0.0019 ↑	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑
b.							
N2 arousals (nociceptive-induced)							
ANOVA results				Post hoc (p and variation)			
Time effect	Frequency band effect	Interaction		Delta	Theta-alpha	Sigma	Beta
PSC	F (1, 23) = 28.95; p < 0.0001	F (3, 69) = 1.505; NS	F (3, 69) = 9.419; p < 0.0001	NS	0.0001 ↑	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑
PMC	F (1, 37) = 19.88; p < 0.0001	F (3, 111) = 24.50; p < 0.0001	F (3, 111) = 5.436; p = 0.0016	NS	0.0001 ↑	0.0001 ↑	<0.0001 ↑
SMA	F (1, 29) = 0.1220; NS	F (3, 87) = 24.62; p < 0.0001	F (3, 87) = 0.5279; NS	/	/	/	/
DLFC	F (1, 43) = 34.23; p < 0.0001	F (3, 129) = 13.50; p < 0.0001	F (3, 129) = 1.842; NS	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑
DLPC	F (1, 42) = 9.926; p = 0.0030	F (3, 126) = 33.24; p < 0.0001	F (3, 126) = 9.950; p < 0.0001	<0.0001 ↑	0.0002 ↑	NS	NS
MPC	F (1, 42) = 9.378; p = 0.0038	F (3, 126) = 25.81; p < 0.0001	F (3, 126) = 8.957; p < 0.0001	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑	NS	NS
ACC	F (1, 34) = 2.101; NS	F (3, 102) = 20.16; p < 0.0001	F (3, 102) = 1.417; NS	/	/	/	/
PCC	F (1, 32) = 15.49; p = 0.0004	F (3, 96) = 13.39; p < 0.0001	F (3, 96) = 3.625; p = 0.0158	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑	NS
PIC	F (1, 49) = 0.5493; NS	F (3, 147) = 10.39; p < 0.0001	F (3, 147) = 12.93; p < 0.0001	/	/	/	/
AIC	F (1, 51) = 30.14; p < 0.0001	F (3, 153) = 8.824; p < 0.0001	F (3, 153) = 7.559; p < 0.0001s	NS	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑



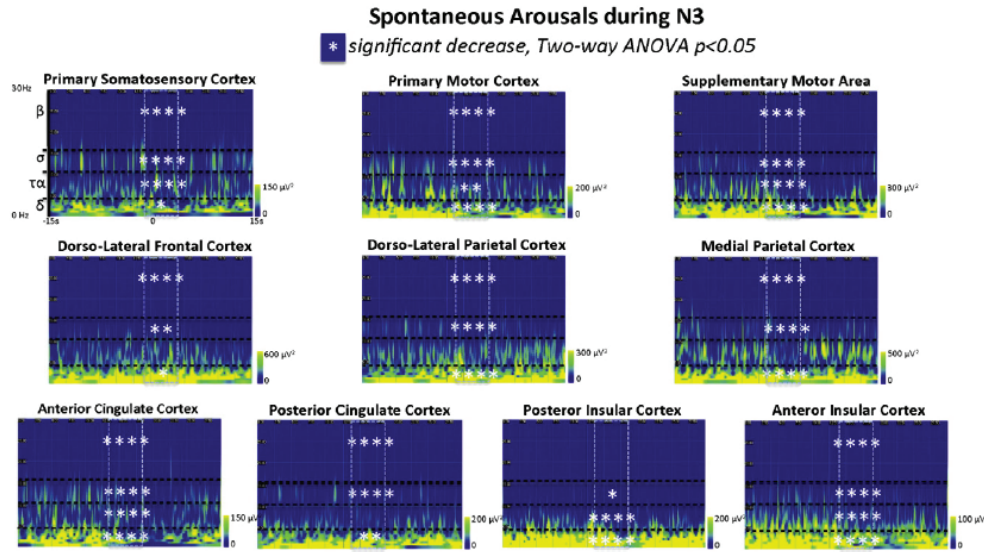


Fig. 4. Time–frequency representations of cortical activity in different areas during NREM N3 arousals. Each time–frequency diagram represents a grand average of the mean time–frequency analyses of  $N$  (number of patients having one electrode in each studied cortical area; see Fig. 1) patients ( $n \leq 10$  arousals/patient for each cortical area). As postero-superior and postero-inferior insular cortex exhibited similar behavior during arousal; results were pooled (posterior insular cortex PIC). The same pooling was performed for antero-superior and antero-inferior insular cortex (anterior insular cortex, AIC). White stars indicate a significant decrease, and red stars, a significant increase in considered frequency,  $p < 0.05^*$  to  $p < 0.00001$  \*\*\*\*. Time window for arousal analysis is represented as a light blue line box (spontaneous arousals:  $[-2; +3]$  s window). Baseline corresponds to the foregoing signal window.

sleep intensity and sleep pressure known to decrease through the successive sleep cycles (Borbely, 1982; Borbely and Achermann, 1999; Achermann and Borbely, 2003). To assess its involvement in arousal patterns during NREM sleep, delta power during 4 sleep cycles in two associative cortices (DLFC and DLPC), two primary cortices (PSC and PMC), and ACC was analyzed. With the reserve linked to the fact that regression analysis were performed on 4 points (mean  $\pm$  sem) only, a significant delta power decrease in pre-arousal signal through successive sleep cycles was observed in DLFC, DLPC, and PMC (DLFC: linear regression,  $r^2 = 0.96$ ,  $p < 0.05$ ; DLPC: linear regression,  $r^2 = 0.99$ ,  $p < 0.0005$ ; PMC: linear regression,  $r^2 = 0.95$ ,  $p < 0.05$ ), and a non-significant trend toward decrease ( $r^2 = 0.89$ ,  $p = 0.06$ ) was observed in PSC whereas ACC did not show any significant baseline delta power modification. Likewise, a significant decrease in delta power in arousal signal through successive sleep cycles was observed in DLFC (linear regression,  $r^2 = 0.99$ ,  $p < 0.01$ ), CMP (linear regression,  $r^2 = 0.93$ ,  $p < 0.05$ ), CSP (linear regression,  $r^2 = 0.98$ ,  $p < 0.01$ ), and ACC (linear regression,  $r^2 = 0.91$ ,  $p < 0.05$ ). In addition, for NREM N2 and N3 arousals, a significant correlation was found between pre-arousal and arousal delta powers in DLFC (linear regression,  $r^2 = 0.22$ ,  $p < 0.0001$ ), DLPC (linear regression,  $r^2 = 0.96$ ,  $p < 0.0001$ ), PMC ( $r^2 = 0.30$ ,  $p < 0.0001$ ), and CSP (linear regression,  $r^2 = 0.52$ ,  $p < 0.0001$ ); for ACC, these correlation was very weak (linear regression,  $r^2 = 0.04$ ,  $p < 0.05$ ) (Fig. 8).

#### Arousal duration

Arousals duration was calculated on thalamic activities. NREM sleep arousals were significantly longer than REM sleep ones ( $9.5 \text{ s} \pm 0.3 \text{ s}$  vs  $8.6 \pm 0.3 \text{ s}$  (mean  $\pm$  sem), Mann–Whitney,  $p < 0.05$ ). Their distribution was dramatically and significantly different between NREM and REM sleep (chi-square value = 121.9;  $DF = 12$ ,  $p < 0.0001$ ): in REM sleep, arousals distribution was homogeneous across duration

between 3 and 15 s, whereas NREM sleep arousals exhibited a bimodal distribution centered on 7 and 15 s (Suppl. data 4).

#### Comparisons between arousals and wakefulness

Detailed ANOVA results for comparison between wakefulness, and SWS, N2, and N3 arousals in thalamus and cortex are presented in Table 7. This comparison showed that thalamic and cortical activities during arousals significantly differed from that of wakefulness in all studied area except PMC, SMA, PCC, and ACC during REM sleep (Fig. 9). In the thalamus, spectral power in delta to beta frequency band during N2, N3, and REM sleep arousals had in-between values between wakefulness and sleep. In the cortex, EEG signal power in N3 arousals had intermediate values between wakefulness and NREM sleep N3, with an increase in delta to sigma power observed in almost all areas. In contrast, the spectral composition of N2 cortical arousals was not always intermediate between N2 and wakefulness, since the signal exhibited higher power than during wakefulness and N2 for quite all frequency bands in several cortical areas (DLFC, DLPC, MPC, PCC). In REM sleep, delta power remained higher in associative cortices (DLPC and DLFC) during arousals than during wakefulness, whereas primary somatosensory and medial parietal cortices beta power was higher than during both wakefulness and REM sleep.

#### Discussion

The main results of the present study are as follows: 1) thalamic activity during arousals is stereotyped and its spectral composition corresponds to a state in-between wakefulness and sleep; 2) patterns of cortical activity during arousals were heterogeneous; their manifold spectral compositions are mainly related to sleep stages and cortical areas, arousal trigger, and homeostasis; 3) spectral compositions of EEG signal during arousal and wakefulness differ from each other.

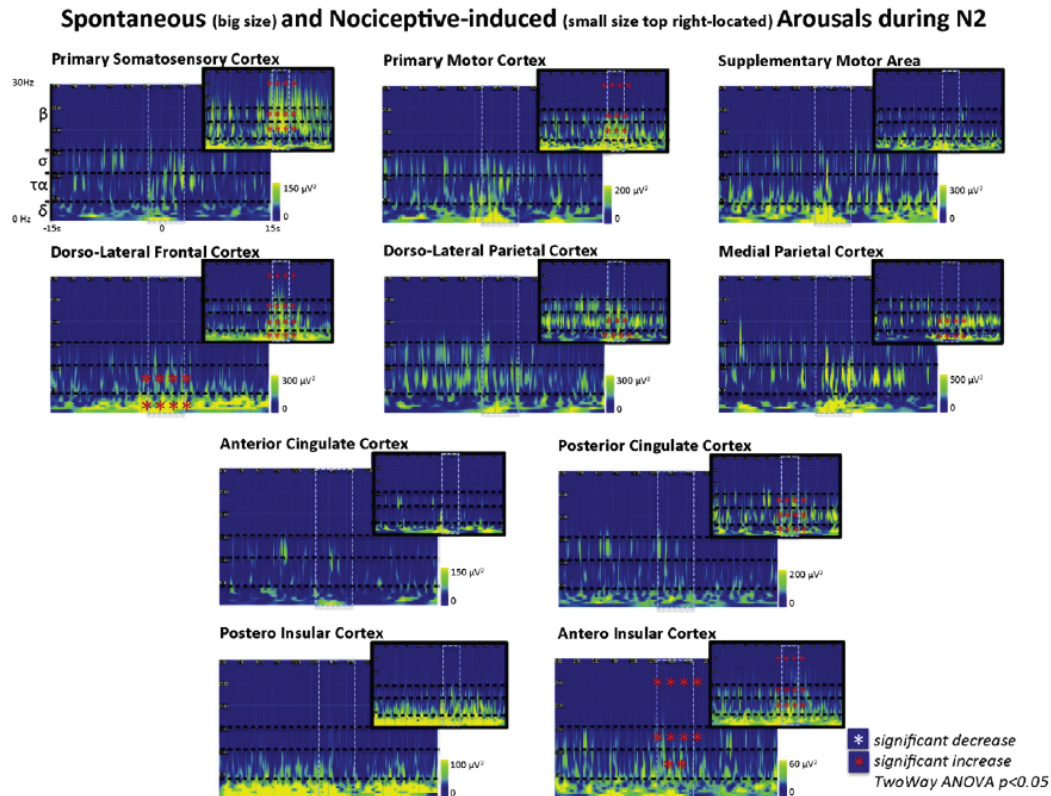


Fig. 5. Time–frequency representations of cortical activity in different areas during NREM N2 arousals. Spontaneous arousals (large size) and nociceptive-induced arousals (small size top right-located) TF are shown. Note the heterogeneity in spectral changes of the different areas. Time window for arousal analysis is represented as a light blue line box (spontaneous arousal: [−2; +3 s] window, and nociceptive-induced arousal: [+1; +5 s] window). Baseline corresponds to the foregoing signal window.

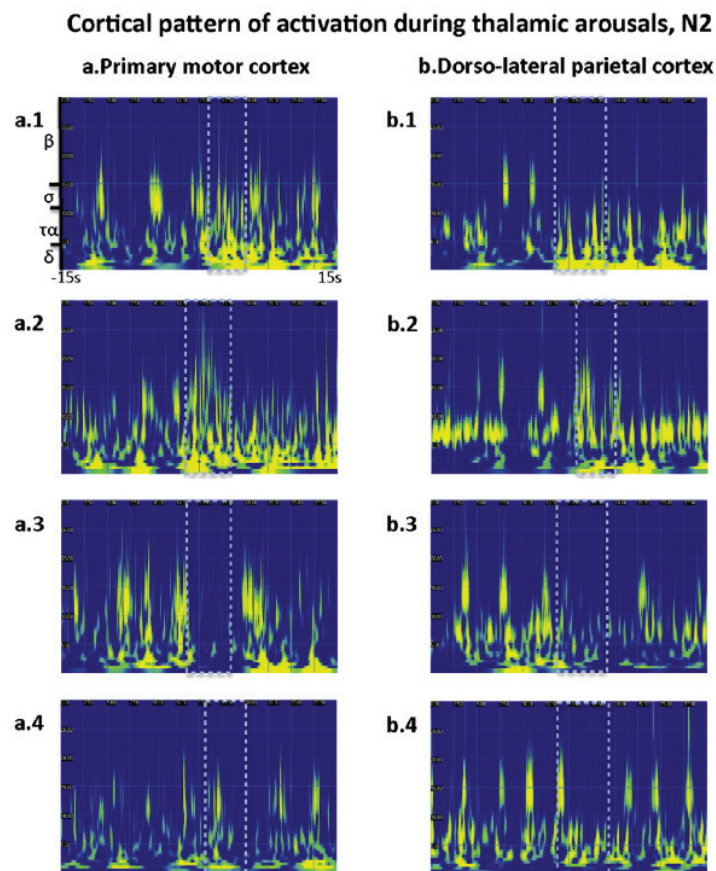
#### Homogeneity in the thalamus, heterogeneity in the cortex

- \* At the thalamic level, arousals were clearly stereotyped. During NREM sleep, they were characterized by a decrease in all frequency bands, while during REM sleep, this activity decrease was limited to delta-to-sigma bands. The delta decrease in thalamic activity during REM sleep arousals might be explained by the fact that delta activity is the predominant activity of the thalamus during this sleep stage (Magnin et al., 2004).
- \* At the cortical level, a marked heterogeneity in activation patterns was observed, mainly depending on brain structure and sleep stage, except during N3.
  - *N3 arousal*: All along this stage, arousals were mainly characterized by a decrease in both slow and fast frequencies due to the decline of delta waves and the blockade of spindles whatever the cortical area considered.
  - *During N2*,
    - ° Three typical frequency patterns of arousal were observed resulting from variable association of increase in slow or fast frequencies. The paradoxical increase of slow activity predominantly observed in associative and high-order cortices was linked to a brief increase in delta power at the beginning of the arousal suggesting a temporal dynamic of deactivation/activation/deactivation to return back to sleep at the end of this arousal.

Interestingly, this early cortical delta increase occurred before the arousal onset, detected in the thalamus, suggesting an asynchronous involvement of different brain structures in the arousal process (see Supplementary data 1).

- ° Nevertheless, the different patterns of arousal were not strictly and systematically associated with specific cortical areas, suggesting the possible influence of other factors such as homeostatic pressure and arousal trigger. Regarding homeostasis, the highest values of delta power during baseline signal and arousals were observed during the first sleep cycles, probably reflecting greatest sleep intensity. In addition, delta powers before and during arousals were correlated in associative but also primary cortices, suggesting a phenomenon of slow wave “inertia” in these areas. Such a phenomenon was already described as the A1 subtype of the cyclic alternating pattern (CAP) and may reflect neural mechanisms for NREM sleep maintenance; indeed, A1 activation was shown to occur mainly during the first sleep cycles and the first part of each sleep cycle indicating thus homeostatic processes of regulation characterized by highest delta activity (Terzano et al., 1985; Parrino et al., 2001).
- ° The impact of the trigger modality leading to arousals has already been studied using auditory and vibrotactile stimuli (Kato et al., 2004). In the present work, the increase in theta + alpha to beta frequencies was larger for nociceptive than for spontaneous





**Fig. 6.** Examples of different cortical patterns of activation during N2 arousals of a same area in a same patient; in a single patient: a. Primary motor cortex (patient 1): a1 (nociceptive-induced arousal): blockage of spindles, increase in delta and theta + alpha frequencies; a2 (spontaneous arousal): blockage of spindles, increase in theta + alpha and beta frequencies; a3 (spontaneous arousal): decrease in all frequency bands; a4 (nociceptive-induced arousal): no signal modification (one spindle is observed); persistent local sleep during thalamic arousal. b. Dorso-lateral parietal cortex (patient 3): b1 (spontaneous arousal): blockage of spindles, increase in delta and theta + alpha frequencies; b2 (nociceptive-induced arousal): blockage of spindles, increase in delta to beta frequencies; b3 (spontaneous arousal): decrease of all frequencies; b4 (spontaneous arousal): isolated blockage of spindles. Time window for arousal analysis is represented as a light blue line box (spontaneous arousals: [−2; +3 s] window, and nociceptive-induced arousals: [+1; +5 s] window). Baseline corresponds to the foregoing signal window. Please note that in a1, a2, and b2 arousals, an increase of signal power in sigma band can be observed during arousal. However, this increase does not correspond to spindles, in terms of duration and morphology but to fast rhythms of wakefulness on EEG and TF.

arousals in many cortical areas. This suggests a higher level of arousal following painful stimulations, which have a particular functional meaning for individuals. Interestingly, this higher level of activation following nociceptive-induced arousals was observed not only in primary somatosensory and motor cortices but also in dorsolateral frontal, dorsolateral parietal, and medial parietal cortices, consistent with the involvement of a widespread network during these arousals (Bastuji et al., 2008).

- Arousals from REM sleep were characterized mainly by a theta–alpha–sigma band increase in parietal cortices, associated with increase in higher (beta) frequencies in PSC and with lower (delta) frequencies in associative parietal cortices. This is in agreement with bursts of alpha activity previously described in scalp recordings and linked to brief arousals (Cantero and Atienza, 2000). In contrast, a decrease in delta to beta EEG activity in other areas, such as the ACC whose metabolic activity was shown to be higher in REM sleep than during wakefulness (Braun et al., 1997,

Madsen et al., 1991), was concomitantly present. Such a result also points to a heterogeneity of arousal phenomenon in REM sleep, at least between different cortical areas. Unlike in N2, limited effect of the arousal trigger modality was observed.

- \* Thus, anatomic cortical areas and sleep stages seem to represent two preponderant factors that modulate the frequency content of arousals at the cortical level. Indeed, some special EEG rhythms have been described in given brain areas and in given stages of vigilance. As an example, during wakefulness, alpha rhythm is mainly recorded in the parieto-occipital area (Niedermeyer and Lopes da Silva, 1998). During NREM sleep, delta waves exhibit larger amplitude in the frontal region, and sleep spindle have different characteristics (in terms of frequency and density) between anterior and posterior areas (Niedermeyer and Lopes da Silva, 1998; Tinguely et al., 2006; Peter-Derex et al., 2012). The anatomical microstructural substrate of these cortical electrogenesis EEG rhythm specificities remains unclear, but cortical cytoarchitectural organization and

**Table 5**  
Results of two-way ANOVA for REM arousals in cortical area (Table 5a: spontaneous arousals; Table 5b: nociceptive-induced arousals).

a.							
REM sleep arousals (spontaneous)							
ANOVA results				Post hoc (p and variation)			
Time effect	Frequency band effect	Interaction		Delta	Theta-alpha	Sigma	Beta
PSC F (1, 39) = 15.39; p = 0.0003	F (3, 117) = 24.21; p < 0.0001	F (3, 117) = 16.94; p < 0.0001		NS	0.0009 ↑	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑
PMC F (1, 49) = 0.5856; NS	F (3, 147) = 157.3; p < 0.0001	F (3, 147) = 8.566; p < 0.0001		/	/	/	/
SMA F (1, 29) = 1.590; NS	F (3, 87) = 76.32; p < 0.0001	F (3, 87) = 5.868; p = 0.0011		/	/	/	/
DLFC F (1, 59) = 0.4883; NS	F (3, 177) = 257.4; p < 0.0001	F (3, 177) = 1.3938032; NS		/	/	/	/
DLPC F (1, 49) = 3.836; NS	F (3, 147) = 120.3; p < 0.0001	F (3, 147) = 1.145; NS		/	/	/	/
MPC F (1, 49) = 10.01; p = 0.0027	F (3, 147) = 65.34; p < 0.0001	F (3, 147) = 0.9502; NS		NS	0.0254 ↑	0.0022 ↑	0.0043 ↑
ACC F (1, 38) = 12.21; p = 0.0012	F (3, 114) = 169.8; p < 0.0001	F (3, 114) = 1.994; NS		NS	0.0011 ↓	NS	0.0016 ↓
PCC F (1, 39) = 17.95; p = 0.0001	F (3, 117) = 47.54; p < 0.0001	F (3, 117) = 0.6681; NS		0.0089 ↑	0.0002 ↑	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑
PIC F (1, 59) = 31.95; p < 0.0001	F (3, 177) = 148.6; p < 0.0001	F (3, 177) = 3.763; p = 0.0119		NS	<0.0001 ↓	<0.0001 ↓	0.0002 ↓
AIC F (1, 69) = 6.325; p = 0.0142	F (3, 207) = 50.40; p < 0.0001	F (3, 207) = 6.858; p = 0.0002		NS	NS	<0.0001 ↑	0.0069 ↑
b.							
REM sleep arousals (nociceptive-induced)							
ANOVA results				Post hoc (p and variation)			
Time effect	Frequency band effect	Interaction		Delta	Theta-alpha	Sigma	Beta
PSC F (1, 35) = 17.17; p = 0.0002	F (3, 105) = 31.49; p < 0.0001	F (3, 105) = 16.19; p < 0.0001		NS	0.0147 ↑	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑
PMC F (1, 35) = 0.2309; NS	F (3, 105) = 91.73; p < 0.0001	F (3, 105) = 6.533; p = 0.0004		/	/	/	/
SMA F (1, 15) = 0.0474; NS	F (3, 45) = 161; p < 0.0001	F (3, 45) = 9.639; p = 0.0017		/	/	/	/
DLFC F (1, 45) = 0.8859; NS	F (3, 135) = 318; p < 0.0001	F (3, 135) = 5.059; p = 0.0024		/	/	/	/
DLPC F (1, 45) = 13.65; p = 0.0006	F (3, 135) = 130.5; p < 0.0001	F (3, 135) = 11.98; p < 0.0001		0.001 ↑	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑	NS
MPC F (1, 49) = 64.41; p < 0.0001	F (3, 147) = 79.56; p < 0.0001	F (3, 147) = 12.15; p < 0.0001		0.0010 ↑	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑	<0.0001 ↑
ACC F (1, 25) = 15.94; p = 0.0005	F (3, 75) = 21.44; p < 0.0001	F (3, 75) = 0.9393; NS		0.0007 ↓	NS	NS	NS
PCC F (1, 39) = 12.52; p = 0.0011	F (3, 117) = 73.80; p < 0.0001	F (3, 117) = 4.725; p = 0.0038		0.0086 ↑	<0.0001 ↑	0.0008 ↑	NS
PIC F (1, 45) = 20.42; p < 0.0001	F (3, 135) = 190.8; p < 0.0001	F (3, 135) = 8.333; p < 0.0001		NS	<0.0001 ↓	0.0002 ↓	NS
AIC F (1, 61) = 0.5939; NS	F (3, 183) = 97.00; p < 0.0001	F (3, 183) = 7.169; p < 0.0001		/	/	/	/

connectivity, which vary throughout different cortical areas, may participate to this phenomenon (Jones, 1981). The other main determinant of arousals heterogeneity is the sleep stage during which arousals occur, since the concomitant prior state of activation or deactivation of the cortex changes according to the different sleep stages (Maquet, 2000; Dang-Vu et al., 2010). However, cortical topography and sleep stage alone do not entirely explain arousal heterogeneity. Indeed, in a given cortex, different arousal patterns can still be observed during a given sleep stage following a controlled nociceptive stimulus. This finding suggests that other factors might be considered. Among them and during NREM, cortical excitability at the time of arousal (slow wave up or down state, ongoing spindle...) may influence the occurrence or the pattern of arousals (Achermann and Borbély, 1997; Destexhe et al., 2007; Steriade, 2003; Steriade et al., 1993). Additionally, antero-posterior propagation of the sleep slow oscillation might explain the occurrence of different patterns of arousal in frontal and parietal areas at a given time (Massimini et al., 2004). Lastly, individual factors may also be involved, since trait-like individual differences in the human sleep EEG have been reported (Buckelmüller et al., 2006).

#### Local sleep, local wake

Our work highlights the heterogeneity of cortical arousals, not only regarding their spectral composition but also with respect to their spatial distribution. Indeed, "local" arousals, involving limited cortical areas, sometimes not associated with detectable arousals on scalp recording, and more global arousals involving most recorded cortical areas, have been observed. In one patient (No. 1), sleep spindles in DLFC were even observed while arousal activities were simultaneously present in medial pulvinar and parietal cortex. This suggests the possibility of dissociation in spindle activity between thalamo-cortical loops. These results are consistent with several clinical observations and recent experimental works. First, subjective arousal perception appears extremely variable and potentially linked to various levels of consciousness and

memory from one arousal to another (Bianchi et al., 2013). In addition, motor behavior during arousals are inconstant and various, from simple to complex movements, presumably reflecting different levels and patterns of activations in specific brain structures (Sforza et al., 2000; Stefani et al., 2014). Heterogeneity of arousals, which combine sleep-like and wake-like characteristics and involve brain areas with variable extension, is also in agreement with clinical observations of intermediate states of vigilance, such as sleep inertia, parasomnia, or drowsiness (Terzaghi et al., 2009, 2012; Bassetti et al., 2000), and with recent reports of simultaneous occurrence of wakefulness and sleep patterns within cerebral activity in awake mice, correlated with behavioral changes (Vyazovskiy et al., 2011, 2014). These observations about local aspects of sleep are in line with the fMRI work of Balkin et al. (2002) on the sequential awakening of subcortical and cortical areas, with the previously described serial sleep onset arising in the thalamus and various cortical areas (Magnin et al., 2010), and with the recent publication by Sarasso et al. on early entry of the hippocampus in slow wave sleep (Sarasso et al., 2014). Topographical heterogeneity and local cortical regulation mechanisms have also been shown for several sleep micro-architectural features such as spindles (Nir et al., 2011; Peter-Derex et al., 2012) and slow waves (Finelli et al., 2001; Werth et al., 1997). Altogether, these observations in human and animals converge to the current understanding of sleep as a heterogeneous condition, consisting of potentially locally different micro-states.

#### Arousal is different from wakefulness and sleep

In all recorded areas and all sleep stages, the spectral composition of EEG signal during an arousal differed from that of wakefulness, except in PMC, SMA, and cingulate cortex during REM arousal. This result suggests that the human brain does not shift from sleep to wake in an abrupt binary way and that arousals can be considered more as a different state of the brain than as "short awakenings." Moreover, while the EEG spectral composition during thalamic arousal and during cortical arousals from N3 was actually "between" wakefulness and sleep,



## Spontaneous (big size) and Nociceptive-induced (small size top right-located) Arousals during REM

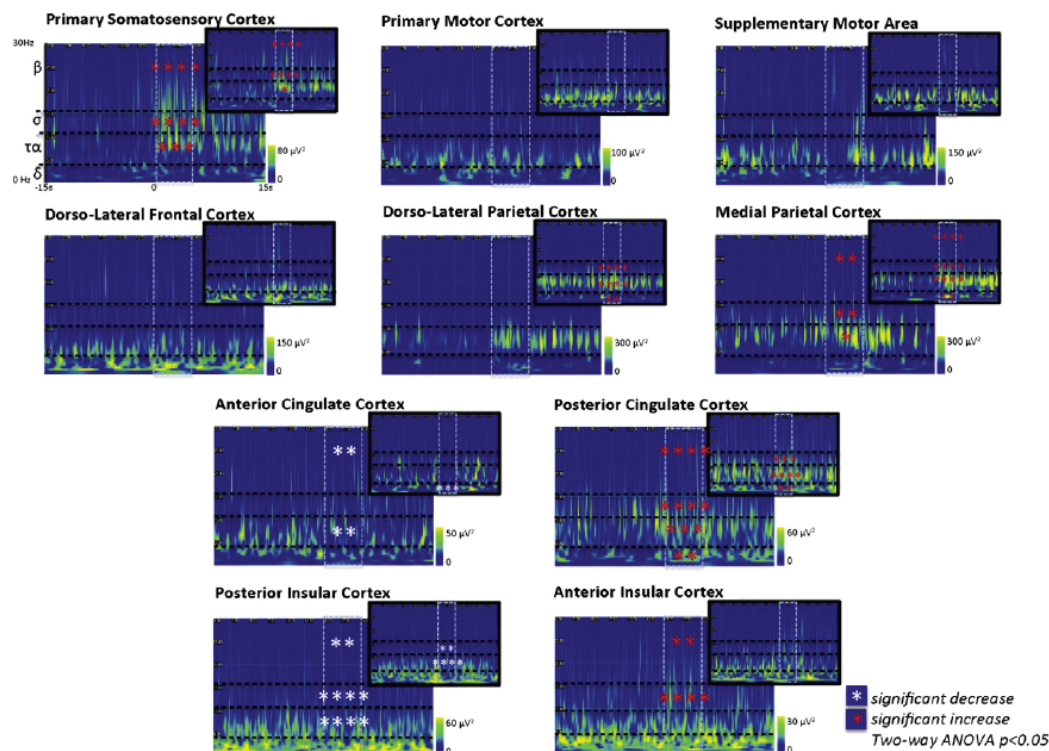


Fig. 7. Time-frequency representations of cortical activity in different areas during REM arousals. Spontaneous arousals (large size) and nociceptive-induced arousals (small size top right-located) TF are shown (same legend as in Fig. 5). Note that sigma power refers to 11–15 Hz frequency band, i.e., mainly beta (and not to spindles). Time window for arousal analysis is represented as a light blue line box (spontaneous arousals: [0; +5 s] window, and nociceptive-induced arousals: [+1; +5 s] window). Baseline corresponds to the foregoing signal window.

those from N2 were quite different in several cortical areas. In associative and high-order cortices, delta power during N2 arousals was surprisingly higher than during N2, and in most areas, delta to beta power was higher during arousal than during wakefulness. During REM arousal, primary somatosensory and medial parietal cortices beta power was higher than during both wakefulness and REM sleep, suggesting a greater activation during the former state, whereas the presence of high delta activity during arousals (not different from that of REM sleep) in DLFC and DLPC suggested the persistence of a partly deactivated state (Maquet, 2000). Lastly, the absence of a significant difference between PMC/SMA REM sleep arousal and wakefulness associated with the absence of a significant difference between PMC/SMA arousal and REM sleep may suggest a persistent activated state of motor cortex during REM (Hess et al., 1987; Hong et al., 2009). These results argue for the hypothesis that cortical arousal is not only an intermediary phenomenon but also a different and specific state probably supported by various factors of regulation. The presence of delta power increase during N2 arousal is perhaps the most striking observation. Only one published work specifically assessed physiological arousals in human with intra-cranial recordings (Nobili et al., 2011). The authors reported that most local activations within the motor cortex were associated with an increase of slow wave activity in the prefrontal cortex, which can be considered as a deepening of sleep

(Amzica and Steriade, 1997; De Gennaro et al., 2000). However, for others, slow waves may reflect an arousal process (Terzano et al., 1990; Wauquier et al., 1995; De Carli et al., 2004; Halasz et al., 2004) and represent a very usual pattern of reactivity in children, but also in comatose patients (Binnie et al., 2003). Whatever their functional significance, these delta burst, intrinsic properties of cortical neurons (Connors et al., 1982), are supposed to reflect partial cortical deafferentation (Steriade et al., 1990) while the transition from EEG-synchronized sleep to arousal is assumed to be accomplished through a depolarization of thalamic neurons (McCormick and Bal, 1997). Thus, it is tempting to hypothesize that the different electrophysiological features and timing of activation of high-order cortices may be related to their specific connectivity and neurochemical properties. This “delta” mode of cortical reactivity during NREM sleep has recently been studied by Pigorini et al., who performed direct intra-cranial electrical stimulation of the cortex in epileptic patients: they recorded an evoked stereotypical slow wave associated with an OFF-period, possibly reflecting a neuronal down-state, and followed by a break-off in the phase-locked responses (Pigorini et al., 2015). The decrease in cortical network functional connectivity, which may block further spread and information processing, may result from cortical network bistability properties. This non-specific cortical reactivity during NREM sleep, following cortical stimulation or ascending sensorial input via

**Table 6**  
Results of two-way ANOVA for comparison between nociceptive-induced and spontaneous arousals in NREM (6a) and REM sleep (6b).

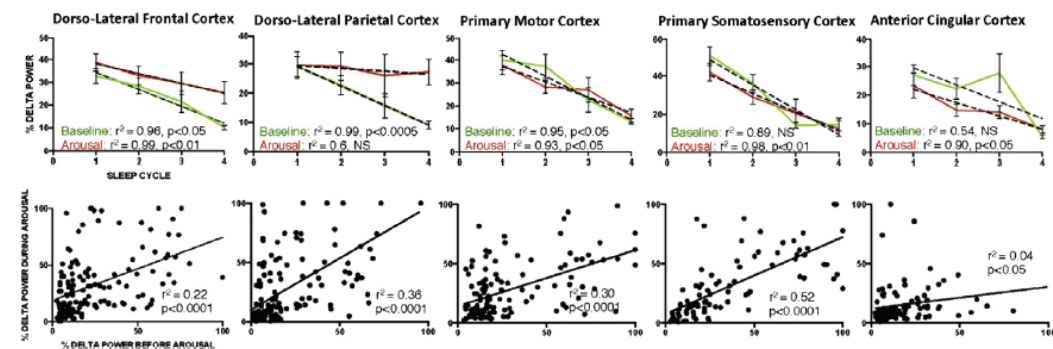
a.							
NREM sleep N2							
ANOVA results			Post hoc (p and variation)				
Condition effect	Frequency band effect	Interaction	Delta	Theta-alpha	Sigma	Beta	
THALAMUS	F (1, 142) = 4.392; p = 0.0379	F (3, 426) = 5.223; p = 0.0015	F (3, 426) = 16.87; p < 0.0001	NS	NS	0.0344 ↑	<0.0001 ↑
PSC	F (1, 62) = 16.51; p = 0.0001	F (3, 186) = 10.02; p < 0.0001	F (3, 186) = 2.534; NS	NS	0.0007 ↑	0.0002 ↑	0.0004 ↑
PMC	F (1, 86) = 10.01; p = 0.0021	F (3, 258) = 1.584; NS	F (3, 258) = 6.242; p = 0.0004	NS	0.0098 ↑	0.0033 ↑	0.0009 ↑
SMA	F (1, 58) = 0.01202; NS	F (3, 174) = 3.903; p = 0.0099	F (3, 174) = 3.363; p = 0.02	/	/	/	/
DLFC	F (1, 102) = 8.200; p = 0.0051	F (3, 306) = 6.105; p = 0.0005	F (3, 306) = 1.637; NS	NS	0.0117 ↑	0.0284 ↑	NS
DLPC	F (1, 91) = 6.805; p = 0.0106	F (3, 273) = 27.51; p < 0.0001	F (3, 273) = 0.9288; NS	NS	NS	0.0444 ↑	NS
MPC	F (1, 91) = 2.844; NS	F (3, 273) = 32.04; p < 0.0001	F (3, 273) = 0.6833; NS	/	/	/	/
ACC	F (1, 73) = 0.1327; NS	F (3, 219) = 6.540; p = 0.0003	F (3, 219) = 1.009; NS	/	/	/	/
PCC	F (1, 71) = 3.463; NS	F (3, 213) = 4.196; p = 0.0065	F (3, 213) = 1.183; NS	/	/	/	/
PIC	F (1, 108) = 0.01872; NS	F (3, 324) = 20.14; p < 0.0001	F (3, 324) = 4.109; p = 0.001	/	/	/	/
AIC	F (1, 117) = 3.947; p = 0.0493	F (3, 351) = 11.10; p < 0.0001	F (3, 351) = 1.440; NS	NS	NS	0.0500 ↑	NS
b.							
REM sleep							
ANOVA results			Post hoc (p and variation)				
Interaction	Delta	Interaction	Delta	Theta-alpha	Sigma	Beta	
THALAMUS	F (1, 144) = 0.6412; NS	F (3, 432) = 172.1; p < 0.0001	F (3, 432) = 1.351; NS	/	/	/	/
PSC	F (1, 74) = 0.07505; NS	F (3, 222) = 32.75; p < 0.0001	F (3, 222) = 0.1270; NS	/	/	/	/
PMC	F (1, 84) = 0.01283; NS	F (3, 252) = 14.69; p < 0.0001	F (3, 252) = 0.03341; NS	/	/	/	/
SMA	F (1, 44) = 0.8631; NS	F (3, 132) = 12.97; p < 0.0001	F (3, 132) = 0.4383; NS	/	/	/	/
DLFC	F (1, 104) = 0.04408; NS	F (3, 312) = 5.756; p = 0.0008	F (3, 312) = 2.052; NS	/	/	/	/
DLPC	F (1, 94) = 3.115; NS	F (3, 282) = 8.653; p < 0.0001	F (3, 282) = 3.249; p = 0.0223	/	/	/	/
MPC	F (1, 98) = 13.04; p = 0.0005	F (3, 294) = 10.59; p < 0.0001	F (3, 294) = 4.459; p = 0.0044	NS	NS	<0.0001 ↑	NS
ACC	F (1, 64) = 0.01994; NS	F (3, 192) = 1.189; NS	F (3, 192) = 1.506; NS	/	/	/	/
PCC	F (1, 78) = 0.09709; NS	F (3, 234) = 2.787; p = 0.0414	F (3, 234) = 2.850; p = 0.0382	/	/	/	/
PIC	F (1, 104) = 1.192; NS	F (3, 312) = 10.11; p < 0.0001	F (3, 312) = 1.221; NS	/	/	/	/
AIC	F (1, 130) = 0.4363; NS	F (3, 390) = 13.75; p < 0.0001	F (3, 390) = 1.036; NS	/	/	/	/

thalamo-cortical pathway, might participate in sleep continuity protection. In any case, as suggested by Halasz et al., the sleeping brain is able to exhibit manifold types of arousals (Halasz, 1998), and arousals result from the interaction of two main contradictory functional necessities, the sleep protecting and “arousability” factors (Halasz et al., 2004), which imply at least a minimal processing of external/internal stimulations to keep the possibility to interact with the environment.

#### Limitations

Our study relied upon EEG recordings in epileptic patients under anti-epileptic drugs, which may limit the generalization of our findings

to healthy subjects. Anti-epileptic drugs are known to modify cortical sleep architecture (Jain and Glauser, 2014; Shvarts and Chung, 2013). Nevertheless, physiological features and architecture of sleep found in our patients were similar to those described in sleeping normal subjects. The sedative effect of anti-epileptic drugs may have increased arousal threshold and thus decrease the arousal index, and their partial withdrawal may have had the inverse effect; however, the quantification of arousals was not a point in our study. The possibility that anti-epileptic drugs may have qualitatively altered arousals cannot be discarded, even if our results are in line with previous findings about arousal in non-epileptic subjects (Halasz et al., 2004). As the recording sites were specifically chosen out of the epileptogenic focus and its



**Fig. 8.** Homeostatic regulation of arousal. *Upper row:* Variations of delta power (normalized delta power (mean  $\pm$  sem) across sleep cycles in different cortical areas in baseline (green line) and arousal (red line) EEG signal for N2 and N3 arousals; black dotted line: linear regression for DLFC, DLPC, PMC, PSC, and ACC. *Lower row:* Correlations between pre-arousal and arousal delta powers on the same areas. Each point represents an arousal.

**Table 7**  
Results of two-way ANOVA for comparison between arousal and wakefulness.

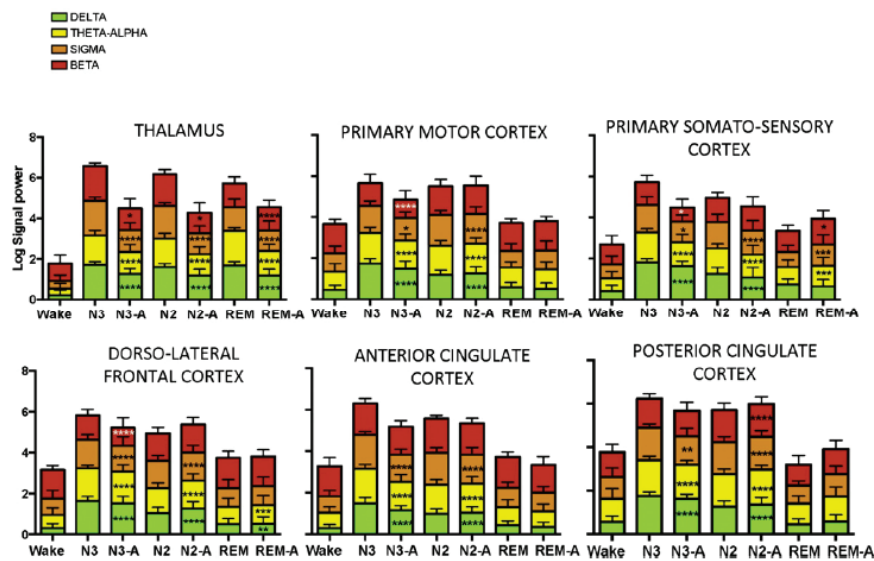
	ANOVA results			Post hoc (p and variation)		
	Vigilance state effect	Frequency band effect	Interaction	Delta		
				SWS-A vs Wake	N2-A vs wake	REM-A vs wake
THALAMUS	F (3, 297) = 122.7; p < 0.0001	F (3, 891) = 13.37; p < 0.0001	F (9, 891) = 29.31; p < 0.0001	<0.0001 †	<0.0001 †	<0.0001 †
PSC	F (3, 142) = 18.24; p < 0.0001	F (3, 426) = 1.747; NS	F (9, 426) = 28.51; p < 0.0001	<0.0001 †	<0.0001 †	NS
PMC	F (3, 181) = 36.40; p < 0.0001	F (3, 543) = 57.81; p < 0.0001	F (9, 543) = 59.71; p < 0.0001	<0.0001 †	<0.0001 †	NS
SMA	F (3, 111) = 37.98; p < 0.0001	F (3, 333) = 65.33; p < 0.0001	F (9, 333) = 22.60; p < 0.0001	<0.0001 †	<0.0001 †	NS
DLFC	F (3, 217) = 48.65; p < 0.0001	F (3, 651) = 76.74; p < 0.0001	F (9, 651) = 93.33; p < 0.0001	<0.0001 †	<0.0001 †	0.0062 †
DLPC	F (3, 193) = 41.02; p < 0.0001	F (3, 579) = 91.20; p < 0.0001	F (9, 579) = 27.37; p < 0.0001	<0.0001 †	<0.0001 †	0.0017 †
MPC	F (3, 193) = 50.43; p < 0.0001	F (3, 579) = 44.65; p < 0.0001	F (9, 579) = 17.45; p < 0.0001	<0.0001 †	<0.0001 †	NS
ACC	F (3, 140) = 60.62; p < 0.0001	F (3, 420) = 185.4; p < 0.0001	F (9, 420) = 21.08; p < 0.0001	<0.0001 †	<0.0001 †	NS
PCC	F (3, 153) = 52.77; p < 0.0001	F (3, 459) = 37.77; p < 0.0001	F (9, 459) = 23.18; p < 0.0001	<0.0001 †	<0.0001 †	NS
PIC	F (3, 211) = 25.63; p < 0.0001	F (3, 633) = 161.2; p < 0.0001	F (9, 633) = 17.23; p < 0.0001	<0.0001 †	<0.0001 †	NS
AIC	F (3, 242) = 8.872; p < 0.0001	F (3, 726) = 55.71; p < 0.0001	F (9, 726) = 38.27; p < 0.0001	<0.0001 †	<0.0001 †	NS

directly connected cortical areas, few abnormal epileptic activities had to be discarded from analyzed data. Finally, as they provide a unique access to deep brain structures impossible to explore with scalp EEG, intra-cerebral recordings performed in epileptic patients have proved to be useful in many electrophysiological sleep studies (Nobili et al., 2011; Sarasso et al., 2014; Bastuji et al., 2012; Magnin et al., 2004; Nir et al., 2011; Peter-Derex et al., 2012).

Another potential bias is related to the fact that not all arousals were kept for analysis, some of them were rejected due to paroxysmal activities or absence of clear thalamic activation. Furthermore, the distribution of arousals all along the night could have been also altered by the laser stimulations delivered. However, the 350 selected arousals in eight patients appear as a rather large sample allowing a broad if not exhaustive description of the possible different arousal patterns. Moreover, thalamic activation is supposed to be constantly present during an arousal, except, perhaps, for arousals directly generated by cortical

stimulation, as epileptic discharges which were rejected in this study (Steriade, 2003; Saper et al., 2010; Jahnke et al., 2012; Steriade et al., 1990; Lin, 2000; Schiff, 2008). Our choice to detect arousals considering thalamic and not cortical activity allowed us to avoid any bias in the detection of cortical activations, which were known to be heterogeneous from surface studies (Halasz, 1993, 1998; Sforza et al., 2000).

It should be mentioned that nociceptive-induced arousals were mainly triggered during the last sleep cycles, introducing thus a possible bias in the comparison between laser and “spontaneous” awakenings. However, such a bias related to homeostasis should have affected delta activity during arousals, whereas the main difference found between nociceptive-induced and “spontaneous” arousals concerned fast frequencies. Finally, for technical reasons, our frequency analysis was limited to the 0–30 Hz frequency bands, thus excluding the gamma band, known to be involved in arousal process, and remaining thus to be explored.



**Fig. 9.** Signal power in the different frequency bands during wakefulness, sleep, and arousals. For a given anatomical site (examples shown: thalamus, PMC, PSC, DLFC, ACC, PCC), in each frequency band and in each patient, signal power was normalized, allowing to pool patients' data and to compare the relative variation of signal power (log) between wakefulness, sleep, and arousals occurring from the different sleep stages. Note that total power (delta + theta-alpha + sigma + beta) for each vigilance stage is not 100% (2) because the normalization was made for a given frequency band throughout the different sleep stages (and not for all frequency bands in a given vigilance stage). NA = nociceptive-induced arousal. SA = spontaneous-induced arousal. Note that sigma power refers to 11–15 Hz frequency band (and not to spindles). Black stars indicate an increase and white stars a decrease of signal power between wakefulness and arousal (two-way ANOVA, post hoc comparisons).



Post hoc (p and variation)								
Theta-alpha			Sigma			Beta		
SWS-A vs Wake	N2-A vs wake	REM-A vs wake	SWS-A vs Wake	N2-A vs wake	REM-A vs wake	SWS-A vs Wake	N2-A vs wake	REM-A vs wake
<0.0001 †	<0.0001 †	<0.0001 †	<0.0001 †	<0.0001 †	<0.0001 †	0.0177 †	0.0477 †	<0.0001 †
<0.0001 †	<0.0001 †	0.0001 †	0.0193 †	<0.0001 †	0.0.0005 †	0.0346 †	NS	0.0128 †
<0.0001 †	<0.0001 †	NS	0.0259 †	<0.0001 †	NS	<0.0001 †	NS	NS
0.0004 †	<0.0.0.0.0001 †	NS	0.0015 †	<0.0001 †	NS	0.0342 †	NS	NS
<0.0001 †	<0.0001 †	0.0007 †	<0.0001 †	<0.0001 †	NS	<0.0001 †	NS	NS
<0.0001 †	<0.0001 †	0.0003 †	NS	<0.0001 †	NS	NS	0.0179 †	NS
<0.0001 †	<0.0001 †	0.0014 †	<0.0001 †	<0.0001 †	NS	NS	0.0003 †	0.0098 †
<0.0001 †	<0.0001 †	NS	<0.0001 †	<0.0001 †	NS	NS	NS	NS
<0.0001 †	<0.0001 †	NS	<0.0001 †	<0.0001 †	NS	NS	<0.0001 †	NS
NS	NS	<0.0001 †	NS	0.0005 †	NS	0.0199 †	0.0006 †	0.0364 †
<0.0001 †	0.026 †	0.0387 †	NS	0.0032 †	NS	<0.0001 †	<0.0001 †	NS

## Conclusion

Simultaneous recordings in the thalamus and in various cortical areas pointed out that stereotyped subcortical arousals could be associated with different patterns of cortical arousal. This result, obtained by intra-cerebral recordings in epileptic patients, is in agreement with Halasz's hypothesis of an extensive variability of arousal reactions, some of them disrupting sleep, and others corresponding to anti-arousal phenomena (Halasz et al., 2004). Whatever their diversity, these micro-states have a common feature which appears to reflect a stand-by state allowing to quickly reach higher arousal levels while maintaining the possibility of sleep continuity (Hirshkowitz, 2002; Halasz, 1993). Fascinating questions, which remain unanswered, concern the determinants of the evolution of an arousal back to sleep or to a complete awakening, and the precise temporal dynamics of pattern of activation within and between cortical areas.

Supplementary data to this article can be found online at <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.07.057>.

## Acknowledgments

This work has been partly supported by the French Sleep Research and Medicine Society (2012).

## References

- ACHERMANN, P., BORBELY, A.A., 1997. Low-frequency (<1 Hz) oscillations in the human sleep electroencephalogram. *Neuroscience* 81, 213–222.
- ACHERMANN, P., BORBELY, A.A., 2003. Mathematical models of sleep regulation. *Front. Biosci.* 8, s683–s693.
- AMERICAN SLEEP DISORDERS ASSOCIATION REPORT, 1992. EEG arousals: scoring rules and examples: a preliminary report from the Sleep Disorders Atlas Task Force of the American Sleep Disorders Association. *Sleep* 15, 173–184.
- AMZICA, F., STERIADE, M., 1997. The K-complex: its slow (<1-Hz) rhythmicity and relation to delta waves. *Neurology* 49, 952–959.
- BALKIN, T.J., BRAUN, A.R., WESENSTEN, N.J., JEFFRIES, K., VARGA, M., BALDWIN, P., BELENKY, G., HERSCOVITCH, P., 2002. The process of awakening: a PET study of regional brain activity patterns mediating the re-establishment of alertness and consciousness. *Brain* 125, 2308–2319.
- BANCAUD, J., TALAIRACH, J., 1973. Methodology of stereo EEG exploration and surgical intervention in epilepsy. *Rev. Otonuroophthal.* 45, 315–328.
- BASSETTI, C., VELLA, S., DONATI, F., WIELEPP, P., WEDER, B., 2000. SPECT during sleepwalking. *Lancet* 356, 484–485.
- BASTUJI, H., PERCHET, C., LEGRAIN, V., MONTES, C., GARCIA-LARREA, L., 2008. Laser evoked responses to painful stimulation persist during sleep and predict subsequent arousals. *Pain* 137, 589–599.
- BASTUJI, H., MAZZA, S., PERCHET, C., FROT, M., MAUGUIERE, F., MAGNIN, M., GARCIA-LARREA, L., 2012. Filtering the reality: functional dissociation of lateral and medial pain systems during sleep in humans. *Hum. Brain Mapp.* 33, 2638–2649.
- BIANCHI, M.T., WILLIAMS, K.L., MCKINNEY, S., ELLENBOGEN, J.M., 2013. The subjective-objective mismatch in sleep perception among those with insomnia and sleep apnea. *J. Sleep Res.* 22, 557–568.
- BINNIE, C.D., VAN EMDE BOAS, W., PRIOR, P.F., SHAW, J.C., EEG Phenomenology in BINNIE, C.D., COOPER, R., MAUGUIERE, F., OSSBLTON, J., PRIOR, P.F., TEDMAN, B.M., 2003. EEG,

- Paediatric Neurophysiology, Special Techniques and Applications. *Clin. Neurophysiol.* 2, P104–215.
- BORBELY, A.A., 1982. A two process model of sleep regulation. *Hum. Neurobiol.* 1, 195–204.
- BORBELY, A.A., ACHERMANN, P., 1999. Sleep homeostasis and models of sleep regulation. *J. Biol. Rhythm.* 14, 557–568.
- BOSELLI, M., PARRINO, L., SMERIERI, A., TERZANO, M.G., 1998. Effect of age on EEG arousals in normal sleep. *Sleep* 21, 351–357.
- BRAUN, A.R., BALKIN, T.J., WESENSTEN, N.J., CARSON, R.E., VARGA, M., BALDWIN, P., SELBIE, S., BELENKY, G., HERSCOVITCH, P., 1997. Regional cerebral blood flow throughout the sleep-wake cycle. An H2(15)O PET study. *Brain* 120 (Pt 7), 1173–1197.
- BUCKELMULLER, J., LANDOLT, H.P., STASSEN, H.H., ACHERMANN, P., 2006. Trait-like individual differences in the human sleep electroencephalogram. *Neuroscience* 138, 351–356.
- CANTERO, J.L., ATENZA, M., 2000. Alpha burst activity during human REM sleep: descriptive study and functional hypotheses. *Clin. Neurophysiol.* 111, 909–915.
- CHOUCHOU, F., PICHOT, V., PERCHET, C., LEGRAIN, V., GARCIA-LARREA, L., ROCHE, F., BASTUJI, H., 2011. Autonomic pain responses during sleep: a study of heart rate variability. *Eur. J. Pain* 15, 554–560.
- CONNORS, B.W., GUTNICK, M.J., PRINCE, D.A., 1982. Electrophysiological properties of neocortical neurons in vitro. *J. Neurophysiol.* 48, 1302–1320.
- DANG-VU, T.T., SCHABUS, M., DESSEILLES, M., STERPENICH, V., BONJEAN, M., MAQUET, P., 2010. Functional neuroimaging insights into the physiology of human sleep. *Sleep* 33, 1589–1603.
- DE CARLI, F., NOBILI, L., BIELKE, M., WATANABE, T., SMERIERI, A., PARRINO, L., TERZANO, M.G., FERRILLO, F., 2004. Quantitative analysis of sleep EEG microstructure in the time-frequency domain. *Brain Res. Bull.* 63, 399–405.
- DE GENNARO, L., FERRARA, M., BERTINI, M., 2000. The spontaneous K-complex during stage 2 sleep: is it the 'forerunner' of delta waves? *Neurosci. Lett.* 291, 41–43.
- DE GENNARO, L., FERRARA, M., BERTINI, M., 2001. EEG arousals in normal sleep: variations induced by total and selective slow-wave sleep deprivation. *Sleep* 24, 673–679.
- DESTEXHE, A., HUGHES, S.W., RUDOLPH, M., CRUNELLI, V., 2007. Are corticothalamic 'up' states fragments of wakefulness? *Trends Neurosci.* 30, 334–342.
- DREWES, A.M., NIELSEN, K.D., ARENDT-NIELSEN, L., BIRKET-SMITH, L., HANSEN, L.M., 1997. The effect of cutaneous and deep pain on the electroencephalogram during sleep—an experimental study. *Sleep* 20, 632–640.
- FERRARA, M., CURCIO, G., FRATELLO, F., MORONI, F., MARZANO, C., PELLICCIARI, M.C., GENNARO, L.D., 2006. The electroencephalographic substratum of the awakening. *Behav. Brain Res.* 167, 237–244.
- FIRELLI, L.A., BORBELY, A.A., ACHERMANN, P., 2001. Functional topography of the human nonREM sleep electroencephalogram. *Eur. J. Neurosci.* 13, 2282–2290.
- GUENOT, M., ISNARD, J., RYVLIN, P., FISCHER, C., OSTROWSKY, K., MAUGUIERE, F., SINDOU, M., 2001. Neurophysiological monitoring for epilepsy surgery: the Talairach EEG method. *StereoElectroencephalography*. Indications, results, complications and therapeutic applications in a series of 100 consecutive cases. *Stereotact. Funct. Neurosurg.* 77, 29–32.
- HALASZ, P., 1993. Arousals without awakening—dynamic aspect of sleep. *Physiol. Behav.* 54, 795–802.
- HALASZ, P., 1998. Hierarchy of micro-arousals and the microstructure of sleep. *Neurophysiol. Clin.* 28, 461–475.
- HALASZ, P., KUNDRA, O., RAJNA, P., PAL, I., VARGHA, M., 1979. Micro-arousals during nocturnal sleep. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* 54, 1–12.
- HALASZ, P., TERZANO, M., PARRINO, L., BODIZS, R., 2004. The nature of arousal in sleep. *J. Sleep Res.* 13, 1–23.
- HESS, C.W., MILLS, K.R., MURRAY, N.M., SCHRIEFER, T.N., 1987. Excitability of the human motor cortex is enhanced during REM sleep. *Neurosci. Lett.* 82, 47–52.
- HIRSHKOWITZ, M., 2002. Arousals and anti-arousals. *Sleep Med.* 3, 203–204.
- HONG, C.C., HARRIS, J.C., PEARLSON, G.D., KIM, J.S., CALHOUN, V.D., FALLON, J.H., GOLAY, X., GILLEN, J.S., SIMMONDS, D.J., VAN ZIJL, P.C., ZEE, D.S., PEKAR, J.J., 2009. fMRI evidence for multisensory recruitment associated with rapid eye movements during sleep. *Hum. Brain Mapp.* 30, 1705–1722.
- IBER, C., ANCOLI-ISRAEL, S., CHESSON, A., QUAN, S.F. (Eds.), 2007. The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology, and technical specification, 1st ed American Academy of Sleep Medicine, Westchester, IL.

- ISNARD, J., 2004. Drug-resistant partial epilepsy. Invasive electrophysiological explorations. *Rev. Neurol. (Paris)* 160 (1), 55138–43.
- JAHNKE, K., VON WEGNER, F., MORZELEWSKI, A., BORISOV, S., MAISCHEIN, M., STEINMETZ, H., LAUPS, H., 2012. To wake or not to wake? The two-sided nature of the human K-complex. *NeuroImage* 59, 1631–1638.
- JAIN, S.V., GLAUSER, T.A., 2014. Effects of epilepsy treatments on sleep architecture and daytime sleepiness: an evidence-based review of objective sleep metrics. *Epilepsia* 55, 26–37.
- JONES, E., 1981. Anatomy of cerebral cortex: columnar input–output organization. In: SCHMITT FO, W.F., ADELMAN, G., DENNIS, S.G. (Eds.), *The organization of the cerebral cortex*. MIT Press, Cambridge (MA).
- KATO, T., MONTPLAISIR, J.Y., LAVIGNE, G.J., 2004. Experimentally induced arousals during sleep: a cross-modality matching paradigm. *J. Sleep Res.* 13, 229–238.
- LIN, J.S., 2000. Brain structures and mechanisms involved in the control of cortical activation and wakefulness, with emphasis on the posterior hypothalamus and histaminergic neurons. *Sleep Med. Rev.* 4, 471–503.
- MADSEN, P., HOLM, S., VORSTRUP, S., FRIEBERG, L., LASSEN, N.A., WILDSCHIODTZ, G., 1991. Human regional cerebral blood flow during rapid-eye-movement sleep. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 11, 502–507.
- MAGNIN, M., BASTUJI, H., GARCIA-LARREA, L., MAUGUIERE, F., 2004. Human thalamic medial pulvinar nucleus is not activated during paradoxical sleep. *Cereb. Cortex* 14, 858–862.
- MAGNIN, M., REY, M., BASTUJI, H., GUILLEMANT, P., MAUGUIERE, F., GARCIA-LARREA, L., 2010. Thalamic deactivation at sleep onset precedes that of the cerebral cortex in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107, pp. 3829–3833.
- MAQUET, P., 2000. Functional neuroimaging of normal human sleep by positron emission tomography. *J. Sleep Res.* 9, 207–231.
- MARZANO, C., MORONI, F., GORGONI, M., NOBILI, L., FERRARA, M., DE GENNARO, L., 2013. How we fall asleep: regional and temporal differences in electroencephalographic synchronization at sleep onset. *Sleep Med.* 14, 1112–1122.
- MASSIMINI, M., HUBER, R., FERRARELLI, F., HILL, S., TONONI, G., 2004. The sleep slow oscillation as a traveling wave. *J. Neurosci.* 24, 6862–6870.
- MATHUR, R., DOUGLAS, N.J., 1995. Frequency of EEG arousals from nocturnal sleep in normal subjects. *Sleep* 18, 330–333.
- MCCORMICK, D.A., BAL, T., 1997. Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annu. Rev. Neurosci.* 20, 185–215.
- MOREL, A., MAGNIN, M., JEANMONOD, D., 1997. Multiarchitectonic and stereotactic atlas of the human thalamus. *J. Comp. Neurol.* 387, 588–630.
- NIEDERMEYER, E., LOPES DA SILVA, F.H., 1998. *Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields*. Williams & Wilkins, Baltimore.
- NIR, Y., STABA, R.J., ANDRILLON, T., VYAZOVSKIY, V.V., CIRELLI, C., FRIED, I., TONONI, G., 2011. Regional slow waves and spindles in human sleep. *Neuron* 70, 153–169.
- NOBILI, L., FERRARA, M., MORONI, F., DE GENNARO, L., RUSSO, G.L., CAMPUS, C., CARDINALE, F., DE CARLI, F., 2011. Dissociated wake-like and sleep-like electrocortical activity during sleep. *NeuroImage* 58, 612–619.
- OSTROWSKY, K., MAGNIN, M., RYVLIN, P., ISNARD, J., GUENOT, M., MAUGUIERE, F., 2002. Representation of pain and somatic sensation in the human insula: a study of responses to direct electrical cortical stimulation. *Cereb. Cortex* 12, 376–385.
- PARRINO, L., SMERIKI, A., ROSSI, M., TERZANO, M.G., 2001. Relationship of slow and rapid EEG components of CAP to ASDA arousals in normal sleep. *Sleep* 24, 881–885.
- PETER-DEREX, L., COMTE, J.C., MAUGUIERE, F., SALIN, P.A., 2012. Density and frequency caudo-rostral gradients of sleep spindles recorded in the human cortex. *Sleep* 35, 69–79.
- PIGORINI, A., SARASSO, S., PROSERPIO, P., SZYMANSKI, C., ARNULFO, G., CASAROTTO, S., FICCHIO, M., ROSANOVA, M., MARIOTTI, M., LO RUSSO, G., PALVA, J.M., NOBILI, L. & MASSIMINI, M., 2015. Bistability breaks-off deterministic responses to intracortical stimulation during non-REM sleep. *NeuroImage* 112, 105–113.
- REY, M., BASTUJI, H., GARCIA-LARREA, L., GUILLEMANT, P., MAUGUIERE, F., MAGNIN, M., 2007. Human thalamic and cortical activities assessed by dimension of activation and spectral edge frequency during sleep wake cycles. *Sleep* 30, 907–912.
- RORDEN, C., BRETT, M., 2000. Stereotaxic display of brain lesions. *Behav. Neurol.* 12, 191–200.
- ROSENBERG, D.S., MAUGUIERE, F., DEMARQUAY, G., RYVLIN, P., ISNARD, J., FISCHER, C., GUENOT, M., MAGNIN, M., 2006. Involvement of medial pulvinar thalamic nucleus in human temporal lobe seizures. *Epilepsia* 47, 98–107.
- SAPER, C.B., CHOU, T.C., SCAMMELL, T.E., 2001. The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. *Trends Neurosci.* 24, 726–731.
- SAPER, C.B., FULLER, P.M., PEDERSEN, N.P., LU, J. & SCAMMELL, T. E., 2010. Sleep state switching. *Neuron* 68, 1023–1042.
- SARASSO, S., PROSERPIO, P., PIGORINI, A., MORONI, F., FERRARA, M., DE GENNARO, L., DE CARLI, F., LO RUSSO, G., MASSIMINI, M. & NOBILI, L., 2014. Hippocampal sleep spindles preceding neocortical sleep onset in humans. *NeuroImage* 86, 425–432.
- SCHIEBER, J.P., MUZET, A., FERRIERE, P.J., 1971. Phases of spontaneous transitory activation during normal sleep in humans. *Arch. Sci. Physiol. (Paris)* 25, 443–465.
- SCHIFF, N.D., 2008. Central thalamic contributions to arousal regulation and neurological disorders of consciousness. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1129, 105–118.
- SPORZA, E., NICOLAS, A., LAVIGNE, G., GOSSELIN, A., PETIT, D., MONTPLAISIR, J., 1999. EEG and cardiac activation during periodic leg movements in sleep: support for a hierarchy of arousal responses. *Neurology* 52, 786–791.
- SPORZA, E., JOUNY, C., IBANEZ, V., 2000. Cardiac activation during arousal in humans: further evidence for hierarchy in the arousal response. *Clin. Neurophysiol.* 111, 1611–1619.
- SPORZA, E., CHAPOTOT, F., PIGEAU, R., PAUL, P.N., BUGUET, A., 2004. Effects of sleep deprivation on spontaneous arousals in humans. *Sleep* 27, 1068–1075.
- SHVARTS, V., CHUNG, S., 2013. Epilepsy, antiepileptic therapy, and sleep cycle parameters. *Epilepsy Res. Treat.* 2013, 670682.
- STEFANI, A., GABELIA, D., MITTERLING, T., POEWE, W., HOGL, B., FRAUSCHER, B., 2014. A Prospective Video-Polysomnographic Analysis of Movements during Physiological Sleep in 100 Healthy Sleepers. *Sleep* [Epub ahead of Print].
- STERIADE, M., 2003. The corticothalamic system in sleep. *Front. Biosci.* 8, d878–d899.
- STERIADE, M., MCCARLEY, R.W.A., 1990. *Brainstem Control of Wakefulness and Sleep*. In: PRESS, P. (Ed.), New York.
- STERIADE, M., GLOOR, P., LLINAS, R.R., LOPES DE SILVA, F.H., MESULAM, M.M., 1990. Report of IFCN Committee on Basic Mechanisms. Basic mechanisms of cerebral rhythmic activities. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 76, 481–508.
- STERIADE, M., CONTRERAS, D., CURRO DOSSI, R. & NUNEZ, A., 1993. The slow (<1 Hz) oscillation in reticular thalamic and thalamocortical neurons: scenario of sleep rhythm generation in interacting thalamic and neocortical networks. *J. Neurosci.* 13, 3284–3299.
- TERZAGHI, M., SARTORI, I., TASSI, L., DIDATO, G., RUSTIONI, V., LORUSSO, G., MANNI, R., NOBILI, L., 2009. Evidence of dissociated arousal states during NREM parasomnia from an intracerebral neurophysiological study. *Sleep* 32, 409–412.
- TERZAGHI, M., SARTORI, I., TASSI, L., RUSTIONI, V., PROSERPIO, P., LORUSSO, G., MANNI, R., NOBILI, L., 2012. Dissociated local arousal states underlying essential clinical features of non-rapid eye movement arousal parasomnia: an intracerebral stereo-electroencephalographic study. *J. Sleep Res.* 21, 502–506.
- TERZANO, M.G., MANCIA, D., SALATI, M.R., COSTANI, G., DECEMBRINO, A., PARRINO, L., 1985. The cyclic alternating pattern as a physiologic component of normal NREM sleep. *Sleep* 8, 137–145.
- TERZANO, M.G., PARRINO, L., FIORITI, G., OROFIAMMA, B., DEPOORTERE, H., 1990. Modifications of sleep structure induced by increasing levels of acoustic perturbation in normal subjects. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 76, 29–38.
- TINGUELY, G., FINELLI, L.A., LANDOLT, H.P., BORBELY, A.A., ACHERMANN, P., 2006. Functional EEG topography in sleep and waking: state-dependent and state-independent features. *NeuroImage* 32, 283–292.
- VYAZOVSKIY, V.V., OLCESE, U., HANLON, E.C., NIR, Y., CIRELLI, C., TONONI, G., 2011. Local sleep in awake rats. *Nature* 472, 443–447.
- VYAZOVSKIY, V.V., CUI, N., RODRIGUEZ, A.V., FUNK, C., CIRELLI, C., TONONI, G., 2014. The dynamics of cortical neuronal activity in the first minutes after spontaneous awakening in rats and mice. *Sleep* 37, 1337–1347.
- WAUQUIER, A., ALOE, L., DECLERCK, A., 1995. K-complexes: are they signs of arousal or sleep protective? *J. Sleep Res.* 4, 138–143.
- WERTH, E., ACHERMANN, P., BORBELY, A.A., 1997. Frontal-occipital EEG power gradients in human sleep. *J. Sleep Res.* 6, 102–112.

# Density and Frequency Caudo-Rostral Gradients of Sleep Spindles Recorded in the Human Cortex

Laure Peter-Derex, MD<sup>1,2,3</sup>; Jean-Christophe Comte, PhD<sup>2,4</sup>; François Mauguière, MD, PhD<sup>1,2,5</sup>; Paul A. Salin, MD, PhD<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Service de Neurologie Fonctionnelle et d'Epileptologie, Hôpital Neurologique, Centre Hospitalier Est, Bron, France; <sup>2</sup>Université de Lyon, Lyon, France; <sup>3</sup>Physiopathologie des réseaux neuronaux du cycle veille-sommeil, INSERM U1028, CNRS UMR 5292, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, Lyon, France; <sup>4</sup>CERMEP, Centre Hospitalier Est, Bron, France; <sup>5</sup>Intégration centrale de la douleur chez l'homme, INSERM U1028, CNRS UMR 5292, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, Université Lyon1, Lyon, France

**Study Objective:** This study aims at providing a quantitative description of intrinsic spindle frequency and density (number of spindles/min) in cortical areas using deep intracerebral recordings in humans.

**Patients or Participants:** Thirteen patients suffering from pharmaco-resistant focal epilepsy and investigated through deep intracortical EEG in frontal, parietal, temporal, occipital, insular, and limbic cortices including the hippocampus were included.

**Methods:** Spindle waves were detected from the ongoing EEG during slow wave sleep (SWS) by performing a time-frequency analysis on filtered signals (band-pass filter: 10-16 Hz). Then, spindle intrinsic frequency was determined using a fast Fourier transform, and spindle density (number of spindles per minute) was computed.

**Results:** Firstly, we showed that sleep spindles were recorded in all explored cortical areas, except temporal neocortex. In particular, we observed the presence of spindles during SWS in areas such as the insular cortex, medial parietal cortex, occipital cortex, and cingulate gyrus. Secondly, we demonstrated that both spindle frequency and density smoothly change along the caudo-rostral axis, from fast frequent posterior spindles to slower and less frequent anterior spindles. Thirdly, we identified the presence of spindle frequency oscillations in the hippocampus and the entorhinal cortex.

**Conclusions:** Spindling activity is widespread among cortical areas, which argues for the fundamental role of spindles in cortical functions. Mechanisms of caudo-rostral gradient modulation in spindle frequency and density may result from a complex interplay of intrinsic properties and extrinsic modulation of thalamocortical and corticothalamic neurons.

**Keywords:** Sleep spindles, human, stereo-electro-encephalography, intra-cortical recording, frequency and density analysis

**Citation:** Peter-Derex L; Comte JC; Mauguière F; Salin PA. Density and frequency caudo-rostral gradients of sleep spindles recorded in the human cortex. *SLEEP* 2012;35(1):XXX-XXX.

## INTRODUCTION

Spindle waves are a hallmark of stage 2 slow wave sleep in mammals. In human scalp EEG, spindles are grouped in short (0.5 to 3 sec) periods of 11-15 Hz oscillations that occur periodically every 3 to 6 sec and typically appear during the initial stage of slow wave sleep.<sup>1-3</sup> The function of sleep spindles has been related to information processing during sleep as they could play a "gating" role, preventing arousal through inhibition of intrusive external stimuli.<sup>4</sup> Recently, a crucial implication of spindles has been suggested in sleep-dependent memory consolidation.<sup>5</sup> Indeed, several works in human and rodents have shown that spindle density and spindle power measured in frontal EEG signals are increased during post-learning sleep.<sup>6</sup>

The cognitive roles of sleep spindles could be related to a particular type of information encoding through a high degree of synchrony between the activities of thalamic and cortical neuronal populations during a short time window. Several *in vivo* and *in vitro* studies in animals have implicated loops between thalamo-cortical and thalamic reticular neurons in the generation of spindle

oscillations.<sup>7-9</sup> In humans and animals, local field potential recordings have shown that neocortical spindles are phase related to the up state of slow oscillations, and that frontal spindles are closely linked with hippocampal ripples.<sup>10-12</sup> Moreover, unit recordings in the hippocampus and prefrontal cortex during these periods indicate a strong synchronization of spike activity, suggesting that spindles may represent a temporal window for information transfer between the hippocampus and the cortical areas.<sup>13</sup>

In humans, early scalp EEG studies characterized 2 or 3 types of spindles based on the intra-spindle frequency.<sup>14</sup> Since then, authors have converged on the opinion that there are 2 main types of spindles based on the intra-spindle frequency, distinguishing slow (11-13 Hz) from fast (13-15 Hz) spindles.<sup>15-19</sup> Slow spindles are recorded in the frontal areas, while fast spindles are preferentially seen in the centroparietal areas.<sup>16</sup> These results have led to suggest the existence of 2, or even several, spindle generators in human thalamus.<sup>15</sup> Most studies of spindles are based on scalp EEG, which is strongly influenced by the type of reference electrode, sensitive to artifact, and partly blind to signals arising from deep cortical regions such as the inner aspect of the hemispheres and the limbic structures.<sup>15,16,20</sup> Few studies have been devoted to the description of spindles in deep EEG.<sup>21,22</sup> Direct recording of the EEG activity through depth electrodes stereotactically implanted in the brain (stereoelectroencephalography or SEEG) is carried out in patients before epilepsy surgery in order to identify the epileptogenic area, the resection of which is expected to result in seizure cessation.<sup>23</sup> This technique allows the recording of neuronal popu-

Submitted for publication February, 2011

Submitted in final revised form August, 2011

Accepted for publication August, 2011

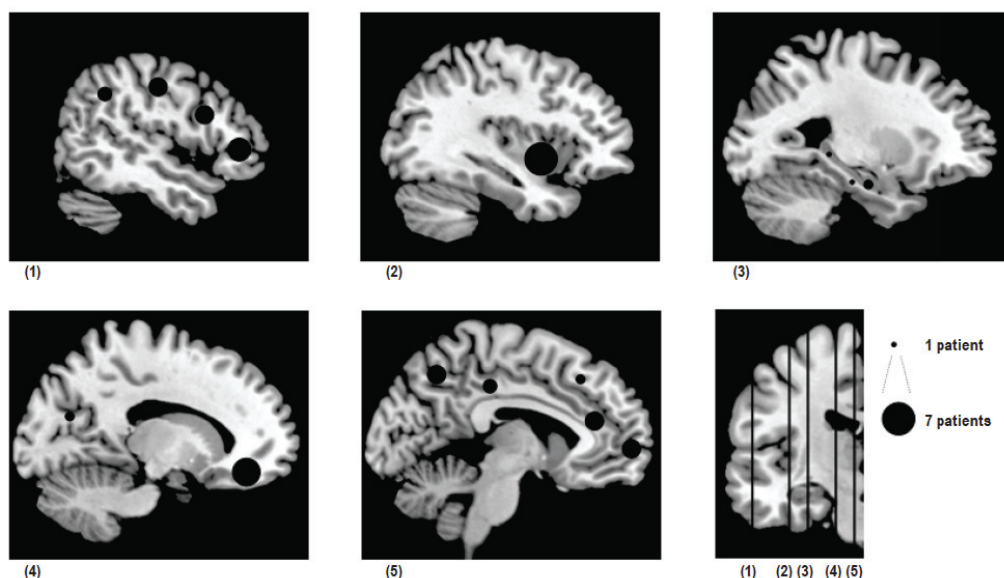
Address correspondence to: Laure Peter-Derex, MD, Service de Neurologie Fonctionnelle et d'Epileptologie, Hôpital Neurologique, Centre Hospitalier Est, 59 Bd Pinel 69677 Bron, France; Tel: (33) 04 72 35 71 68; Fax: (33) 04 72 35 73 97; E-mail: laure.peter@chu-lyon.fr

*SLEEP*, Vol. 35, No. 1, 2012

1

Sleep Spindles Density and Frequency—Peter-Derex et al





**Figure 1**—Electrode locations on sagittal T1 MRI slices. Black-filled circles represent electrodes locations on sagittal T1 MRI slices. Topography of the sagittal sections is shown on the bottom right coronal slice, from (1) lateral to (5) medial. For each anatomical location, size is proportional to the number (1 to 7) of the patients explored. **Slice (1):** posterior lateral frontal cortex (precentral gyrus, precentral sulcus):  $n = 4$ ; middle lateral frontal cortex ( $F1 > F3$ ):  $n = 4$ ; anterior lateral frontal cortex (pole):  $n = 5$ ; lateral parietal cortex:  $n = 3$ . **Slice (2):** anterior insular cortex:  $n = 7$ . **Slice (3):** anterior hippocampus:  $n = 2$ ; posterior hippocampus:  $n = 1$ ; entorhinal cortex:  $n = 1$ . **Slice (4):** orbitofrontal cortex:  $n = 6$ ; occipital cortex:  $n = 2$ . **Slice (5):** anterior cingulate gyrus:  $n = 4$ ; posterior cingulate gyrus:  $n = 3$ ; medial parietal cortex:  $n = 4$ ; anterior medial frontal cortex:  $n = 4$ ; middle medial frontal cortex:  $n = 2$ .

lation activity in brain regions that are not accessible to scalp EEG. The goal of the present study was to provide a detailed description of spindle frequency and of their regional distribution in the human cortex, including limbic structures.

## METHODS

Thirteen patients suffering from pharmaco-resistant focal epilepsy (9 males and 4 females, mean age: 31 years, range: 17–50 years) and investigated with SEEG in the Epilepsy Unit of the Neurological Hospital of Lyon between June 2003 and May 2008 were included in this study. This exploration aimed at identifying the epileptogenic networks in order to propose a surgical curative treatment. The topography of the electrodes implantation was guided by data from noninvasive investigations (clinical history, video-scalp-EEG monitoring, morphologic MRI, and [ $^{18}\text{F}$ ]-fluorodeoxyglucose position emission tomography). The choice of anatomic targets was different from a patient to another, but the most often explored areas were limbic structures (hippocampus, entorhinal cortex, and posterior and anterior cingulate cortex); frontal medial, orbital, and lateral cortex; and in some patients, insular, parietal, or occipital cortex (Figure 1). In 7 patients, the electrode implantation was bilateral. In the present study, the recording sites of interest were selected retrospectively after visual examination of EEG traces and elimination of sites showing interictal spikes and/or nocturnal epileptic discharges.

*SLEEP, Vol. 35, No. 1, 2012*

## Intracerebral Stereotactic EEG Procedure

An average of 13 (range: 11–16) depth electrodes per patient were implanted perpendicular to the sagittal plane with a stereotactic frame. Each platinum-iridium electrode had a diameter of 0.8 mm and contained 5 to 15 recording contacts, which were 2 mm long and spaced by 1.5 mm (Dixi, Besançon, France).

The stereotactic implantation procedure was derived from that first described by Talairach and Bancaud (1973) and is detailed in Ostrowsky et al.<sup>24,25</sup> A cerebral angiogram was first performed in stereotactic conditions using an x-ray source 4.85 m away from the patient's head, to eliminate the linear enlargement due to x-ray divergence. In order to reach the eloquent cortical target, the stereotactic coordinates of each electrode were calculated preoperatively on the individual cerebral MRI previously enlarged at scale 1.<sup>26</sup> Cerebral MR and angiographic images were superimposed to avoid any risk of vascular injury during implantation. Electrodes could be left in place chronically up to 15 days. To check the final position of each electrode with respect to the targeted anatomical structures, a post-implantation frontal x-ray was performed and superimposed on MR images.

Video and SEEG signals were collected through bipolar recordings between two neighboring contacts with a sampling rate of 128 Hz (4 patients), 256 Hz (6 patients), or 512 Hz (3 patients) using Micromed software (Treviso, Italy). The high-pass digital filter was set at 0.53 Hz. Value of the low-pass digi-



**Table 1**—Clinical and demographic characteristics of patients

Patient	Gender/Age	MRI findings	Seizure onset zone	Anti-epileptic drugs (mg/day)	Location of electrodes selected for spindles analysis
1	M/44	Normal	Left temporal pole	Levetiracetam (1000) Gabapentin (800) Lamotrigine (200)	PH, AMFC, ALFC, OFC
2	M/20	Normal	Left parietal cortex	Topiramate (100) Lamotrigine (300)	MMFC, MLFC, PLFC, ACG, OC
3	M/35	Normal	Right lateral temporal cortex	Information not available	MPC, MLFC
4	M/23	Normal	Left basal temporal cortex	Levetiracetam (500) Oxcarbazepine (600)	IC, LPC, MPC, OC
5	M/32	Normal	Right perisylvian cortex	Phenobarbital (150) Carbamazepine (1000) Levetiracetam (1000) Clobazam (15)	AMFC, ALFC, OFC, IC, MPC, ACG
6	F/31	Normal	Right temporal pole	Carbamazepine (200) phenobarbital (150)	IC
7	M/26	Normal	Left amygdala	Oxcarbazepine (1200) Levetiracetam (1000)	AH, OFC, IC, PLFC
8	F/20	Normal	Right amygdala	Levetiracetam (500)	AH, EC, AMFC, ALFC, OFC, PCG, IC, ACG
9	F/50	Normal (lateral temporal cortex dysplasia ?)	Right mesial temporal lobe	Oxcarbazepine (600) Vigabatrin (500)	OFC
10	F/49	Normal	Right temporal pole	Topiramate (400)	AMFC, ALFC, OFC, IC
11	M/17	Normal	Not determined	Clobazam (60)	MLFC, PLFC (x 2), MMFC, ACG
12	M/21	Left occipito-temporal dysplasia	Left occipito-temporal cortex	Valproic acid (500)	LPC, MPC, IC, MLFC, PCG
13	M/33	Lateral frontal cortex dysplasia	Lateral frontal cortex	Carbamazepine (800) Phenytoin (200)	ALFC, PCG, LPC

Abbreviation for location of selected electrodes: AH, anterior hippocampus; PH, posterior hippocampus; EC, entorhinal cortex; ACG, anterior cingulate gyrus; PCG, posterior cingulate gyrus; OFC, orbitofrontal cortex; MFC, medial frontal cortex (AMFC, anteriorMFC; MMFC, middleMFC); LFC, lateral frontal cortex (ALFC, anteriorLFC; MLFC, middleLFC; PLFC, posterior LFC); LPC, lateral parietal cortex; MPC, medial parietal cortex; OC, occipital cortex; IC, insular cortex.

tal filter was fixed at half the values of the different sampling frequencies used, i.e., 64, 128, and 256 Hz. The slope of the filter was 32 dB/octave.

#### Patients and Epilepsy

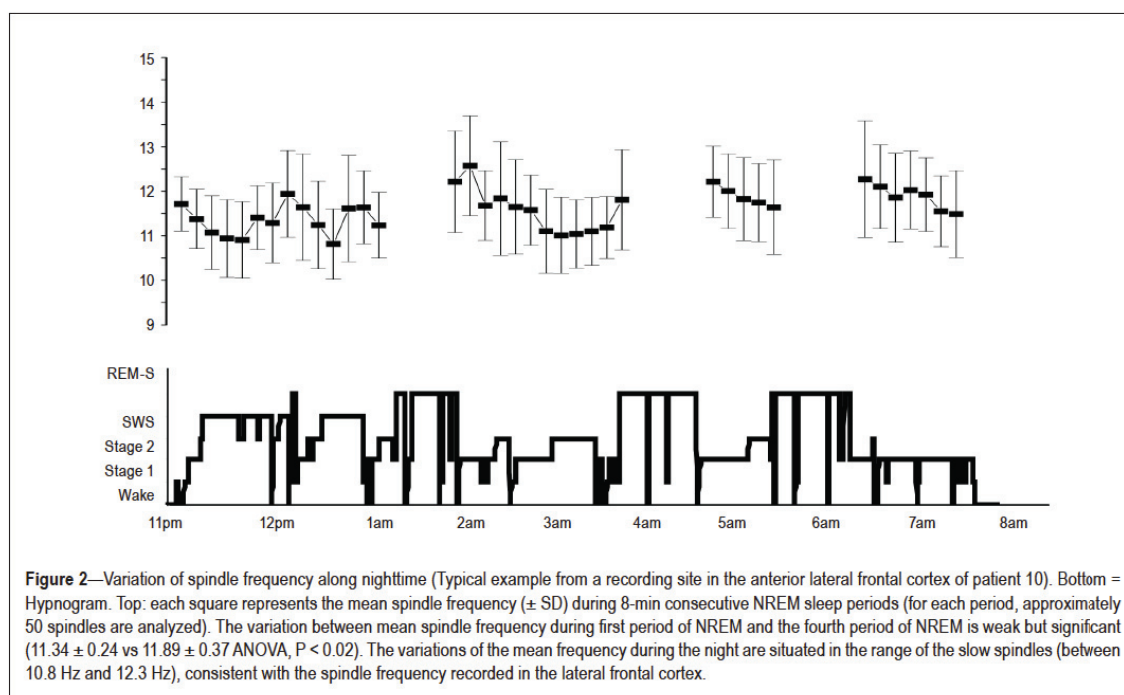
All patients were candidates for neurosurgical treatment of partial drug-resistant epilepsy (Table 1). In 10 patients, morphologic brain MRI was normal. Nine patients suffered from temporal lobe epilepsy (TLE), most of them from non-mesial TLE. All patients received anti-epileptic drugs, which were gradually tapered during video-SEEG in order to increase the probability of spontaneous seizures.

All patients were fully informed of the aims and risks of the implantation of SEEG electrodes and of continuous vid-

eo-SEEG monitoring including during sleep; all signed written consents.

#### Sleep Recording and Scoring

Sleep recordings were carried out approximately 1 week after surgical implantation of electrodes. Recordings started at 21:00-22:00 and continued for about 10 h. EEG, electro-oculogram (EOG), and video recordings were used for sleep scoring. Slow wave sleep (SWS) was identified according to Rechtschaffen and Kales guidelines for 20-sec epochs.<sup>1</sup> The criteria used for sleep states were as follows: for stage 1, presence of theta rhythm; stage 2: presence of spindles and < 20% of delta waves; SWS: > 20% of delta waves; paradoxical sleep: rapid low-voltage EEG resembling wake EEG with rapid eye move-



ment on EOG recordings. In case of doubt between paradoxical sleep and wake, we analyzed the video recordings. Sleep stages were scored by two polysomnographers trained in analyzing intracerebral sleep recordings.

#### Recording Sites

The EEG traces recorded by bipolar derivation between adjacent contacts were first visually analyzed. For each anatomical region, the trace presenting the best signal-to-noise ratio was selected for further analysis. Following visual analysis, a mean of 4 (1 to 8) sites per patient were selected for spindles study, which were distributed in the following anatomical regions (Figure 1; Table 1):

- *Anterior lateral and medial frontal cortex* ALFC/AMFC (Brodmann area 10-11): 5 and 4 patients, respectively
- *Middle lateral frontal cortex* MLFC (BA 6, 8, 9, 44 to 46): 4 patients
- *Middle medial frontal cortex* MMFC (BA 6, 8, 9, 32): 2 patients
- *Posterior lateral frontal cortex* PLFC (BA 4): 3 patients
- *Orbito-frontal cortex* OFC (BA 12 and 47): 6 patients
- *Anterior cingulate gyrus* ACG (BA 24): 4 patients
- *Posterior cingulate gyrus* PCG (BA 23, 26, 29, and 31): 3 patients
- *Lateral parietal cortex* LPC (BA 7, 39, 40): 3 patients
- *Medial parietal cortex* MPC (BA 7): 4 patients
- *Occipital cortex* OC (BA 18, 19): 2 patients
- *Anterior/posterior Hippocampus* AH/PH (BA 34): 3 patients (11 patients had an hippocampal (5 bilateral) exploration, but for signal analysis, only 3 patients were selected because of the scarcity of epileptic spikes)

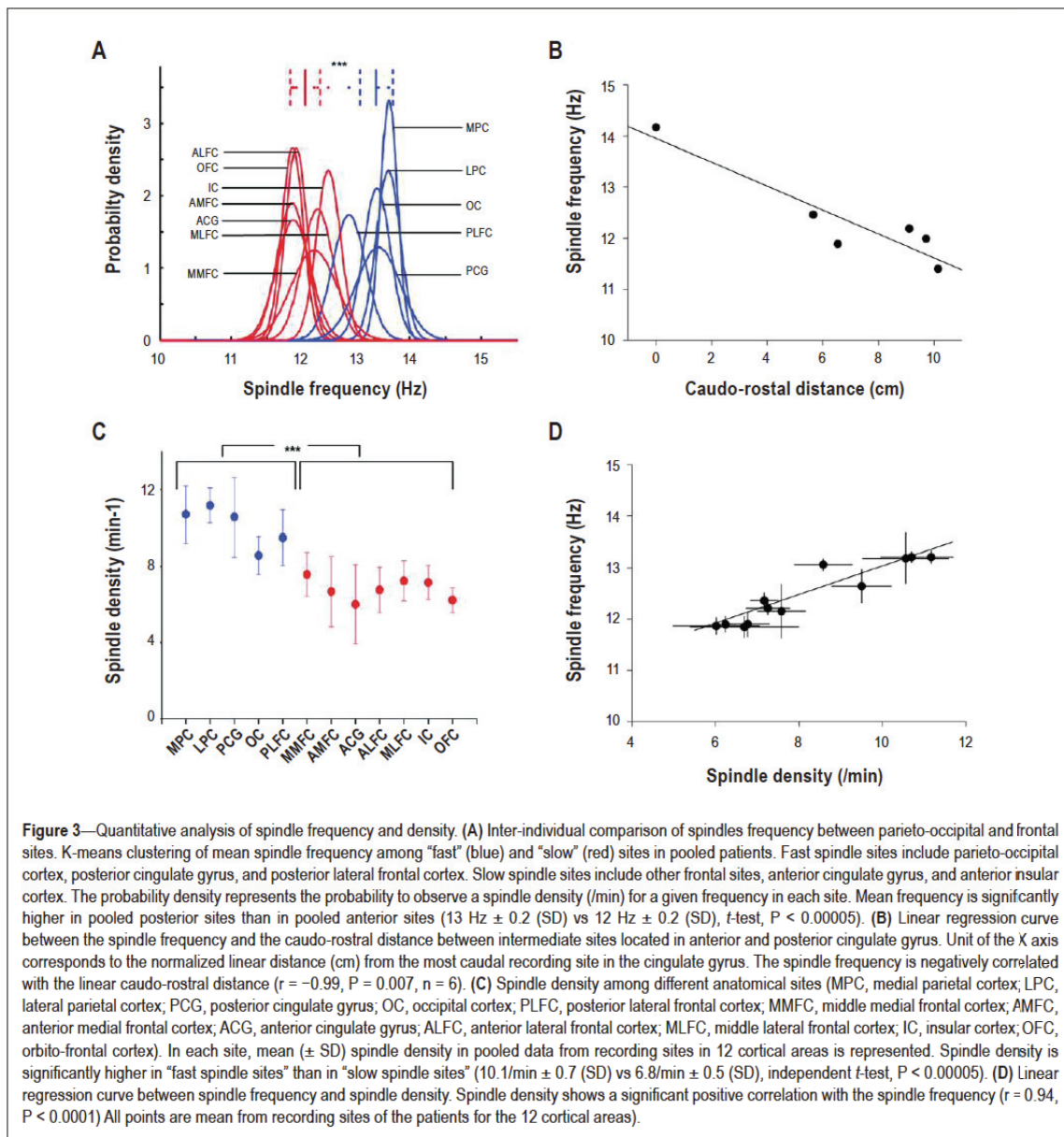
- *Entorhinal cortex* EC (BA 28): 1 patient
- *Insular cortex pars anterior and superior* IC (BA 52): 7 patients

#### Analysis Epochs in SWS Recordings

In 11 patients, we performed our analysis on three 4-min epochs of SWS. During these 12 minutes of SWS we detected an average of  $95 \pm 32.3$  (SD) spindles per site. In 2 patients (Patients 9 and 11), the SWS stage was entirely analyzed during the night in one selected frontal derivation to assess the stability of spindles characteristics throughout the night (Figure 2). In these 2 patients, we observed an increase of  $< 0.5$  Hz in intrinsic spindle frequency from the beginning to the end of the night, indicating that the spindle frequency was quite stable during sleep duration for a given patient. This intra-subject spindle frequency stability has been previously reported in scalp EEG recordings.<sup>16</sup>

#### Signal Analysis

The EEG traces were visually inspected independently by 2 neurologists (LPD and FM), who looked for the presence of spindles and eliminated epochs contaminated by epileptic spikes in the background activity. Then, EEG files were analyzed after conversion using homemade software (<http://www.isc.cnrs.fr/informatique/jcc>). A time-frequency analysis using Morlet wavelets allowed determining the presence (or absence) of pseudo-periodic energy peaks in the 10- to 16-Hz frequency band. To isolate the spindle waves from the ongoing EEG for further analysis, we filtered the signals with a finite impulse response (FIR) band-pass filter: 10-16 Hz. Then, the instantaneous power carried by this frequency band was computed

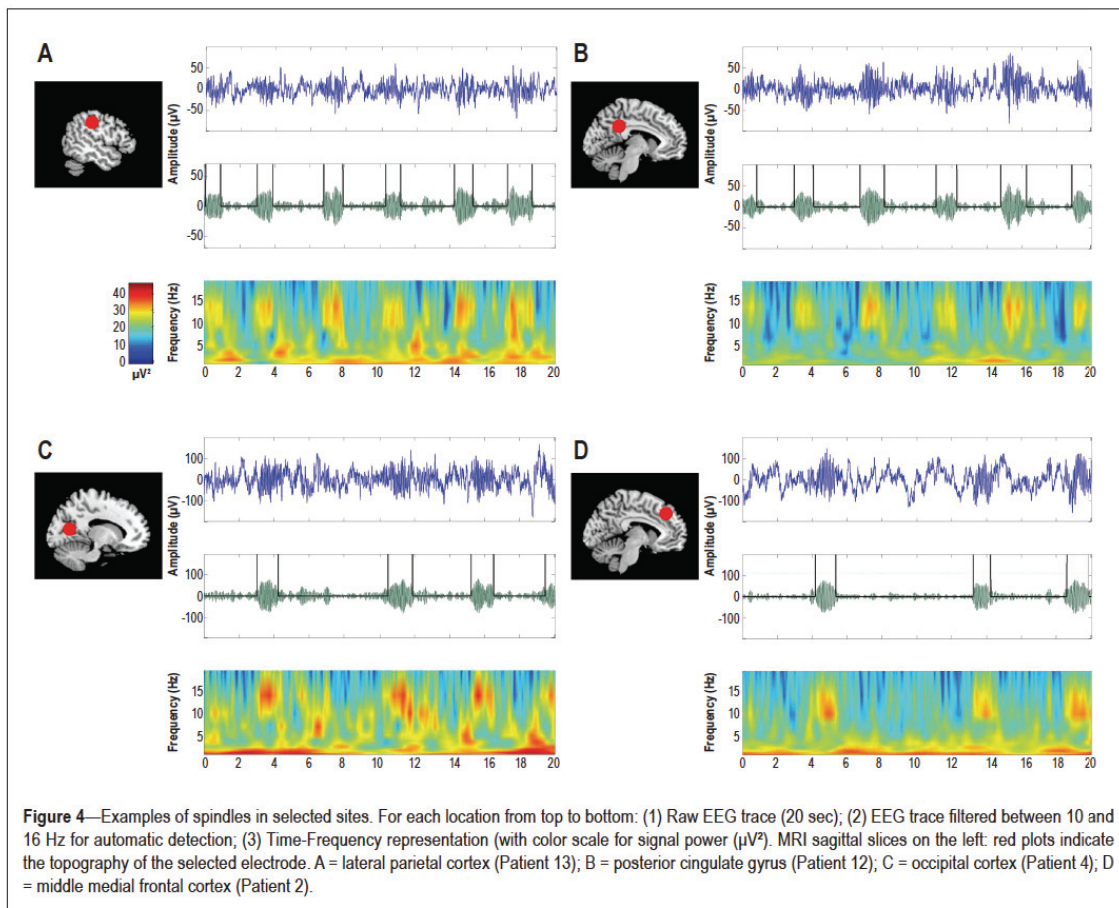


using a Gaussian sliding window (1 sec width) applied to the squared signal, and a threshold of 25% was applied to the normalized power magnitude to extract the most significant spindle wave in a given episode. Thus, we computed statistically the spindles of all magnitude scales. Such parameters allowed us to identify spindles with a sensitivity of 85% and a specificity of 95% (in comparison to visual analysis). Once spindles were extracted, the normalized power spectrum (using fast Fourier transform [FFT]) for each spindle was calculated, and the peak of this spectrum  $F_i$  (= each spindle intrinsic frequency) determined. Note that in order to reach a 0.1 Hz spectral resolution, we applied the classical zero filling signal processing method

to each detected spindle. This method consists in concatenating null values to the spindle signal in order to extend the signal window size. Since the spectral resolution is proportional to the window size in the time domain, this method allows increasing the resolution without adding information. Finally, we determined the spindle mean frequency ( $F_m$ ) with previously calculated  $F_i$  values and established the frequency distribution of  $F_i$  values (number of spindles per frequency band).

In order to classify the frequency of spindles we carried out a k-means clustering algorithm, as shown in Figure 3A. We predefined the number of clusters (in our case 2 clusters), and the algorithm partitioned the data (mean spindles frequency in each





**Figure 4**—Examples of spindles in selected sites. For each location from top to bottom: (1) Raw EEG trace (20 sec); (2) EEG trace filtered between 10 and 16 Hz for automatic detection; (3) Time-Frequency representation (with color scale for signal power ( $\mu V^2$ )). MRI sagittal slices on the left: red plots indicate the topography of the selected electrode. A = lateral parietal cortex (Patient 13); B = posterior cingulate gyrus (Patient 12); C = occipital cortex (Patient 4); D = middle medial frontal cortex (Patient 2).

anatomical site), calculated the mean point, or centroid, of each set and constructed a new partition by associating each point with the closest centroid. Then the centroids were recalculated for the new clusters, and algorithm was iteratively repeated by alternate application of these 2 steps, so that the within-cluster sum of square was minimized.<sup>27</sup>

Normality of spindle frequency distribution was determined using a Kolmogorov-Smirnov test. All  $F_i$  frequency distributions were normal except for middle medial frontal cortex and anterior lateral frontal cortex. Also, means ( $F_m$ ) and SD of spindle frequency for a given site and for a given patient (and peak  $F_p$  of the distribution of  $F_i$  values for middle medial frontal cortex and anterior lateral frontal cortex) were used to compare similar sites between subjects and different sites for a given subject, using a  $t$ -test. Univariate effect of side, site, and epileptic spikes on spindle frequency in the hippocampus was analyzed with  $\chi^2$  test.  $P$  values  $< 0.05$  were considered as significant.

## RESULTS

### Neocortical Spindles

Sleep spindles could be easily detected in SEEG recordings in each neocortical site during SWS (Figure 4). Interestingly,

*SLEEP, Vol. 35, No. 1, 2012*

typical oscillations at spindle frequency were also detected in deep structures, including insular cortex, medial parietal cortex, medial occipital cortex, and cingulate gyrus. In temporal neocortex, sleep spindles were not visually detected and spectral analysis did not show any peak in the 12-14 Hz range. Nevertheless, as many of the patients were suffering from temporal epilepsy, the abundance of epileptic paroxysms in this region prevented us from drawing conclusions.

### Frequency analysis of neocortical spindles

Intra-spindle frequency was assessed for all cortical spindles recorded in the different areas. Different peaks in the spindle frequency band emerged from the time-frequency analysis of the EEG signal recorded in different sites. Such topographic differences in intra-spindle frequency were also observed in the Gaussian distribution of each spindle with respect to its intrinsic frequency. Given these results we sought to determine whether the difference in spindle frequency might be observed between frontal and parieto-occipital sites, known from the studies of scalp EEG. Indeed, in patients whose implantation included both frontal and parieto-occipital sites, an antero-posterior gradient in the distribution of spindle frequency was observed: spindles recorded in fron-

**Table 2—Intra-individual differences in spindle frequency among sites**

Patient	Anterior sites		Posterior sites		
	Location	Mean spindles frequency (Hz) $\pm$ SD	Location	Mean spindles frequency (Hz) $\pm$ SD	t-test
2	MMFC+MLFC+PLFC+ACG	11.8 $\pm$ 0.4	OC	13 $\pm$ 0.1	P < 0.0005
3	MLFC	12.2 $\pm$ 0.3	MPC	13.4 $\pm$ 0.1	P < 0.005
5	AMFC+ALFC+OFC	11.5 $\pm$ 0.1	OC	13.3 $\pm$ 0.3	P < 0.005
12	MLFC	11.9 $\pm$ 0.2	MPC+LPC	13 $\pm$ 0.4	P < 0.00005
13	ALFC	11.3 $\pm$ 0.1	LPC	13.2 $\pm$ 0.3	P < 0.005

In each of the 5 patients recorded in both anterior and posterior sites, spindle frequency was significantly higher in pooled parieto-occipital sites than in between pooled frontal sites.

tal sites were significantly slower than spindles recorded in parieto-occipital sites (Table 2).

We used the k-means clustering algorithm (see Methods) to classify spindles according to their intrinsic frequency. Several anterior sites (AMFC, ALFC, OFC, and ACG) showed slow spindles, whereas parieto-occipital sites (LPC, MPC, and PCG) exhibited fast spindles ( $P < 0.0005$ ). However, although 2 clusters of slow and fast spindles emerged from this analysis, clear intermediate spindle frequencies were also observed in 4 different recording sites (MMFC, MLFC, IC, and PLFC, Figure 3A). To determine whether these differences in spindle frequency correspond to a caudo-rostral gradient or to distinct spindle frequencies in frontal and parieto-occipital areas, we correlated in the cingulate gyrus (where recording sites are in the same sagittal plane) the spindle frequency with the rostrocaudal position of each electrode (Figure 3B). Although the number of sites was small, the linear regression between the caudo-rostral position of recording site and the spindle frequency was significant ( $r = -0.99$ ,  $P = 0.007$ ,  $n = 6$ , Figure 3B). This observation suggests that the differences in spindle frequency between parieto-occipital and frontal sites might result from a progressive caudo-rostral change in spindle frequency and not from a steep separation between frontal and parieto-occipital areas.

#### Density analysis of neocortical spindles

Next, we examined the spindle density (number of spindles/min). We observed that in neocortical sites with fast spindles, the spindle density was 50% higher than in sites with slow spindles ( $10.1 \pm 0.2/\text{min}$  vs  $6.8 \pm 0.2/\text{min}$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 3C). As for the intra-spindle frequency, spindles recorded in some sites (MMFC, PLFC) represented intermediate values of spindle density between frontal and parieto-occipital areas. This prompted us to determine whether there was a correlation between spindle density and intra-spindle frequency when data from all neocortical sites were pooled together. Indeed we found a highly significant positive correlation between the spindle density and frequency ( $r = 0.94$ ,  $P < 0.0001$ , Figure 3D). Altogether, our results suggest a gradient of spindle frequency and density along the caudo-rostral axis.

#### Spindle frequency oscillations in the hippocampus and entorhinal cortex during SWS

In the hippocampus, oscillatory bursts around 14 Hz sharing the typical features of neocortical sleep spindles were observed

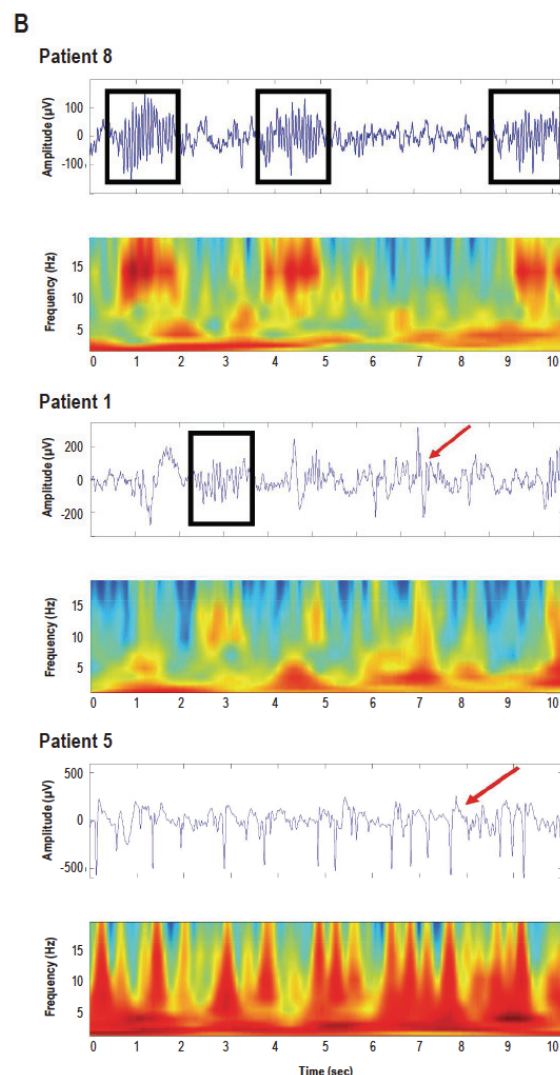
in 7 hippocampi (7 patients), while in the remaining 8 patients, epileptic spikes prevented us from carrying out an analysis of hippocampal oscillations. In 5 patients the hippocampal implantation was bilateral, and in 3 patients both the anterior and the posterior hippocampus were explored. In patients with bilateral exploration, hippocampal spindle frequency oscillation (HSO) emerged unilaterally in 4 patients, ipsilateral to the epileptogenic focus in 2 cases and contralateral in the 2 others. We analyzed the effect of the side (ipsilateral to the epileptic focus vs contralateral), the site (anterior vs posterior hippocampus), and the presence or the absence of spikes: none of these variables was predictive for absence or presence of HSO (Figure 5A). Nevertheless, in the only hippocampus without any epileptic spikes at the time of the recording, sleep spindles were clearly observed (Figure 5B, Patient 8). In 2 patients (Patients 7 and 8) with no or very rare epileptic spikes in the anterior hippocampus, the mean HSO frequency was  $13.4 \pm 0.5$  Hz and the HSO density was  $5.4 \pm 4.3/\text{min}$ . In patient 1, with rare epileptic spikes in the posterior hippocampus, the mean HSO frequency was  $13.4 \pm 0.5$  Hz and the HSO density was  $11.3 \pm 3.5/\text{min}$ . In contrast, Figure 5B illustrates an example of recordings in a patient with rich epileptic spiking activity. In this case, no HSO was observed during the whole recorded period (Figure 4B, Patient 5). Interestingly also, Patient 8, without any epileptic spikes in the hippocampus, had electrodes in the entorhinal cortex, an area strongly interconnected with the dentate gyrus, the hippocampus proper and the subiculum. The entorhinal cortex activity recorded in this patient exhibited spindle frequency oscillations, with a mean frequency of  $14.2 \pm 0.6$  and a density of  $5.3 \pm 0.5/\text{min}$ , similar to those observed in the hippocampus. These results suggest that mesiotemporal limbic structures exhibit spindle oscillations whose frequency is close to that of fast cortical spindles.

#### DISCUSSION

In the present study, we first showed that sleep spindles were generated in all recorded cortical areas, except temporal neocortex where the abundance of epileptic paroxysms prevented us from drawing conclusions (one can note that Nakabayashi et al., did not find any spindles in medial and basal temporal lobe with electrocorticographic recordings).<sup>28</sup> In particular, we observed the presence of spindles during SWS in areas such as insular cortex, medial parietal cortex, occipital cortex, and cingulate gyrus. Second, we demonstrated that



A			Ipsilateral hippocampus		Contralateral hippocampus	
			Anterior hippocampus	Posterior hippocampus	Anterior hippocampus	Posterior hippocampus
SPIKES +	HSO +		2	2	2	0
	HSO -		8	1	2	1
SPIKES -	HSO +		1	0	0	0
	HSO -		0	0	0	0



**Figure 5**—Hippocampal spindle frequency oscillations (HSO). The table shows the distribution (number of patients) of HSO according to the presence of spikes and the location. No significant correlation was found for presence vs absence of HSO according to the side (ipsilateral to the epileptic focus vs contralateral), the site (anterior vs posterior hippocampus), and the presence or the absence of spikes ( $\chi^2$ ,  $P > 0.3$ ,  $n = 21$ ). Examples of hippocampus EEG traces and time-frequency analysis (10 sec) during SWS sleep (spikes = red arrow, spindles = black squares). Top: no spikes and HSO (Patient 8); Middle: spikes and HSO (Patient 1); Bottom: spikes and no HSO (Patient 5).

both spindle frequency and density change smoothly along the caudo-rostral axis. Finally, we identified the presence of spindle frequency oscillations in the hippocampus and the entorhinal cortex.

Before discussing the results, we have first to address some methodological issues. Results were obtained in epileptic patients in whom cross-interferences may occur between sleep oscillations and epileptogenic mechanisms.<sup>29</sup> In epileptic neurons of mesial temporal lobe, higher firing rates and increased synchronous firing have been observed during SWS and paradoxical sleep compared with wakefulness.<sup>30</sup> At a macroscopic level, the activation of interictal epileptic discharges by sleep spindles is well known.<sup>31</sup> Enhanced spindle activity has been described in the epileptic hemisphere in patients suffering from partial epilepsy.<sup>32</sup> Nevertheless, the spindle characteristics we observed in our study did not differ from those reported in scalp EEG studies of non-epileptic subjects. Moreover, as indicated in Methods, two neurologists (co-authors of the present article) discarded independently the recordings showing interictal spiking activity. The antiepileptic medications taken by the patients can also interfere with electrogenesis, but most of these treatments are only known to modulate spindle density.<sup>33</sup> Lastly, all patients included in this study suffer from focal epilepsy and are candidates to a surgical curative treatment. This implies that after successful resection of the “epileptic focus” the brain of these patients will return to a non-epileptic, or rather a non-epileptogenic, status. The situation would have been quite different in the context of idiopathic generalized epilepsy, where epileptogenesis (which is likely to be genetically determined in this type of epilepsy) represents a characteristic supposed to be common to all, or most of, thalamocortical circuits.<sup>34</sup> Thus, although we are unable to bring evidence that epileptic and non-epileptic brains generate spindles in a similar fashion, spindles recorded in the non-epileptogenic cortical areas of our patients look usable for approaching sleep spindle physiology.

Another issue concerns the new methods of signal analysis we developed. Automatic detection of spindles could misclassify some oscillations as spindles. However, the reliability of the software detection of spindles was counterchecked by a careful visual examination of the oscillations. We chose selective automatic detection criteria in order to reach a high detection specificity (approximately 95%), to the detriment of the detection sensitivity, which was, however, 85%. This procedure entailed the risk of spindle density underestimation. Nevertheless, this slight decrease in detection sensibility did not introduce any bias in the quantification of the fast/slow spindle density ratio, which was similar to that reported in scalp EEG studies.<sup>20</sup>

To our knowledge, the present study is the first in which sleep spindle density and frequency have been studied in relation to their topography using intra-cortical electrodes in the human brain. Nakumara et al., using electrocorticographic surface recordings, have shown that low-frequency spindle oscillations around 12 Hz were widely distributed across orbital, medial, dorsolateral prefrontal cortices and frontal pole.<sup>21</sup> These authors reported that spindle frequency peak value in frontal sites was slower than that observed at the midline central site [Cz] (13.5 Hz), but no postcentral recording sites were available in their study. We observed similar results in prefrontal sites and added information about posterior fast spindles. These results confirm scalp EEG and magnetoencephalographic studies, which described two or three types of spindles.<sup>14,15,20,35</sup> Differences between spindles not only concern frequency and density but also homeostatic and circadian regulation, as well as pharmacologic and hormonal modulation or maturation during life.<sup>3,16,36-39</sup> Moreover, learning-dependent increase in spindle density has shown local specificity, depending on the type of the pre-sleep learning task. Verbal memory retention has been positively correlated to an increase in the low-frequency sleep spindle density in left frontocentral areas, motor-skills tasks with spindle activity in contralateral central area, and spatial visuomotor task with fast-spindle activity in parietal areas.<sup>40-43</sup>

What could be the mechanism generating differences in spindle frequencies? It has been shown that spindle bursting oscillations emerge from reciprocal interactions between GABA-ergic inhibitory nucleus reticularis thalamic neurons and excitatory thalamocortical relay neurons.<sup>44</sup> The reticular thalamic nucleus acts as a pacemaker, which induces rhythmic hyperpolarization and consecutive rebound depolarization secondary to low threshold calcium spike activation in thalamocortical neurons. Thalamocortical neurons connect to neurons in different cortical areas giving rise to the spindle waves.<sup>45</sup> A change in ion channel conductance of thalamocortical neurons projecting on frontal and parieto-occipital cortex may thus explain spindle frequency differences between these two cortical regions.<sup>8</sup> Slow and fast spindles could thus emerge from distinct thalamocortical networks involving, respectively, the reticular nucleus, mediodorsal and anterior thalamic nuclei, prefrontal, orbito-frontal, anterior insular, and anterior cingulate cortices for slow cortical spindle oscillations, and the reticular nucleus, ventral lateral, and posterior thalamic nuclei including pulvinar, precentral, postcentral, parietal, occipital, and temporal cortices for fast posterior spindles.<sup>46-48</sup> However, our results are not in favor of an abrupt change in spindle frequency between anterior and posterior recording sites, but rather show a progres-

sive rostro-caudal modulation in spindle frequency and density. This finding suggests that cortico-cortical and cortico-thalamic connections could modulate the spindling activity generated by reticulo-thalamic and thalamocortical neurons. This hypothesis is supported by several studies in animals showing an important role of cortico-thalamic connections in sleep spindle generation.<sup>49,50</sup> The recent study of Nir et al. also argues for local modulation of thalamocortical activity in SWS.<sup>22</sup> Finally, a recent article suggested an influence of peripheral sensory inputs on spindle density, which increases when the synaptic bombardment of thalamocortical neurons by retinal ganglion cells decreases.<sup>51</sup> Thus the caudo-rostral modulation of spindle density and frequency may result from a complex interplay of intrinsic properties and extrinsic modulation of thalamocortical and corticothalamic neurons.

We observed spindle frequency oscillations in the hippocampus, ipsilateral or contralateral to the epileptic focus, in both the epileptic and non-epileptic hippocampus. This result confirms and further underlines the physiological role of such oscillations in the hippocampus. Oscillation of 12 to 14 Hz have been recorded in the hippocampus during SWS.<sup>53,54</sup> These articles suggested that such oscillations were either a physiological activity or an evoked response of the hippocampus to an epileptic afferent discharge. In other studies, "limbic spindles" have been found to occur simultaneously or independently of surface spindles, without any relationship with the epileptogenic region.<sup>54-56</sup> In monkeys, the posterior parahippocampal gyrus is connected, as the posterior cingulate gyrus, to the medial nucleus of the pulvinar but also to the so-called limbic nuclei (anterior nuclear group and laterodorsal nucleus), and to the lateral-posterior nucleus, which is modality-specific.<sup>58,59</sup> In rats and cats, the hippocampal formation (including CA1, the entorhinal cortex, and the subiculum) are connected to the anterior thalamus, in particular to the nucleus reuniens, and in squirrel monkeys to anterior and laterodorsal thalamic nuclei.<sup>59-61</sup> Thus sleep spindles may emerge from mesial temporal areas, as these structures receive connections from thalamic nuclei.<sup>62</sup> The question whether they result from thalamo-hippocampal loops is important, given the role of thalamo-hippocampal circuits in learning and memory.<sup>63</sup>

In summary, we recorded sleep spindles from almost every cortical area that was explored with deep electrodes. This argues for the fundamental role of spindles in cortical functions. Mechanisms of caudo-rostral gradient modulation in spindle frequency and density remain hypothetical and would require further studies based on simultaneous recordings of thalamic and neocortical spindles. However, our study does not fit with the concept of two distinct thalamocortical circuitries generating anterior slow and posterior fast spindles, and rather suggest a continuous rostrocaudal change of spindle frequencies reflecting the existence of multiple thalamocortical circuits and their modulation by corticothalamic and cortico-cortical connections.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Marc Guénot for stereotactic electrodes implantations, Hélène Bastuji for collaboration in sleep recordings analysis, and Michel Magnin for constructive input and critical reading of the manuscript. This study was performed at the Hôpital Neurologique, Centre Hospitalier Est, 59 Bd Pinel 69677 Bron, France.



## DISCLOSURES

This was not an industry supported study. The authors have indicated no financial conflicts of interest.

## REFERENCES

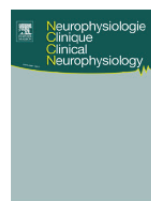
1. Rechtschaffen A, Kales R (eds). A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stage of human subjects. Washington, DC: Public Health Service, US Government Printing Office, 1968.
2. De Gennaro L, Ferrara M. Sleep spindles: an overview. *Sleep Med Rev* 2003;7:423-40.
3. Nicolas A, Petit D, Rompré S, Montplaisir J. Sleep spindle characteristics in healthy subjects of different age groups. *Clin Neurophysiol* 2001;112:521-7.
4. Steriade M, Linás RR. The functional states of the thalamus and the associated neuronal interplay. *Physiol Rev* 1988;68:649-742.
5. Gais S, Mölle M, Helms K, Born J. Learning-dependent increases in sleep spindle density. *J Neurosci* 2002;22:6830-4.
6. Clemens Z, Fabó D, Halász P. Overnight verbal memory retention correlates with the number of sleep spindles. *Neuroscience* 2005;132:529-35.
7. Morison RS, Bassett DL. Electrical activity of the thalamus and basal ganglia in decorticate cats. *J Neurophysiol* 1945;8:309-14.
8. Steriade M, Domich L, Oakson G, Deschênes M. The deafferented reticular thalamic nucleus generates spindle rhythmicity. *J Neurophysiol* 1987;57:260-73.
9. McCormick DA, Bal T. Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annu Rev Neurosci* 1997;20:185-215.
10. Steriade M, Nuñez A, Amzica F. Intracellular analysis of relations between the slow (< 1 Hz) neocortical oscillation and other sleep rhythms of the electroencephalogram. *J Neurosci* 1993;13:3266-83.
11. Clemens Z, Mölle M, Eross L, Barsi P, Halász P, Born J. Temporal coupling of parahippocampal ripples, sleep spindles and slow oscillations in humans. *Brain* 2007;130:2868-78.
12. Clemens Z, Mölle M, Eröss L, et al. Born J. Fine-tuned coupling between human parahippocampal ripples and sleep spindles. *Eur J Neurosci* 2010;33:511-20.
13. Wierzyński CM, Lubenov EV, Gu M, Siapas AG. State-dependent spike-timing relationships between hippocampal and prefrontal circuits during sleep. *Neuron* 2009;61:587-96.
14. Gibbs FA, Gibbs EL. Atlas of electroencephalography. Vol 1. Cambridge MA: Addison-Wesley, 1950.
15. Jobert M, Poiseau E, Jähmig P, Schulz H, Kubicki S. Topographical analysis of sleep spindle activity. *Neuropsychobiology* 1992;26:210-7.
16. Werth E, Achermann P, Dijk DJ, Borbély AA. Spindle frequency activity in the sleep EEG: individual differences and topographic distribution. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1997;103:535-42.
17. Zygierevicz J, Blinowska KJ, Durka PJ, Szelenberger W, Niemcewicz S, Androsiuk W. High resolution study of sleep spindles. *Clin Neurophysiol* 1999;110:2136-47.
18. Anderer G, Klossch G, Gruber G, et al. Low-resolution brain electromagnetic tomography revealed simultaneously active frontal and parietal sleep spindle sources in the human cortex. *Neuroscience* 2001;103:581-92.
19. Schabus M, Dang-Vu TT, Albouy G, et al. Hemodynamic cerebral correlates of sleep spindles during human non-rapid eye movement sleep. *PNAS* 2007;104:13164-69.
20. Zeitlhofer J, Gruber G, Anderer P, Asenbaum S, Schimicek P, Saletu B. Topographic distribution of sleep spindles in young healthy subjects. *J Sleep Res* 1997;6:149-55.
21. Nakamura M, Uchida S, Maehara T, et al. Sleep spindles in human prefrontal cortex: an electrocorticographic study. *Neurosci Res* 2003;45:419-27.
22. Nir Y, Staba RJ, Andrillon T, et al. Regional slow waves and spindles in human sleep. *Neuron* 2011;70:153-69.
23. Guenet M, Isnard J, Ryvlin P, et al. Neurophysiological monitoring for epilepsy surgery: the Talairach SEEG method. *StereoElectroEncephalography*. Indications, results, complications and therapeutic applications in a series of 100 consecutive cases. *Stereotact Funct Neurosurg* 2001;77:29-32.
24. Bancaud J, Talairach J. Methodology of stereo EEG exploration and surgical intervention in epilepsy. *Rev Otonuroophthalmol* 1973;4:315-28.
25. Ostrowsky K, Magnin M, Ryvlin P, Isnard J, Guenet M, Mauguiera F. Representation of pain and somatic sensation in the human insula: a study of responses to direct electrical cortical stimulation. *Cereb Cortex* 2002;12:376-85.
26. Talairach J, Tournoux P. Co-planar stereotaxic atlas of the human brain. Stuttgart: Thieme, 1988.
27. Hartigan JA. Clustering algorithms. New York: John Wiley & Sons, 1975.
28. Nakabayashi T, Uchida S, Maehara T, et al. Absence of sleep spindles in human medial and basal temporal lobes. *Psychiatry Clin Neurosci* 2001;55:57-65.
29. Steriade M, Amzica F. Sleep oscillations developing into seizures in corticothalamic systems. *Epilepsia* 2003;44:9-20.
30. Staba RJ, Wilson CL, Bragin A, Fried I, Engel J Jr. Sleep states differentiate single neuron activity recorded from human epileptic hippocampus, entorhinal cortex, and subiculum. *J Neurosci* 2002;22:5694-704.
31. Nobili L, Ferrillo F, Baglietto MG, et al. Relationship of sleep interictal epileptiform discharges to sigma activity (12-16 Hz) in benign epilepsy of childhood with rolandic spikes. *Clin Neurophysiol* 1999;110:39-46.
32. Clemens B, Ménes A. Sleep spindle asymmetry in epileptic patients. *Clin Neurophysiol* 2000;111:2155-9.
33. Hirshkowitz M, Thornby JJ, Karacan I. Sleep spindles: pharmacological effects in humans. *Sleep* 1982;5:85-94.
34. Steriade M. Sleep, epilepsy and thalamic reticular inhibitory neurons. *Trends Neurosci* 2005;28:317-24.
35. Urakami Y. Relationships between sleep spindles and activities of cerebral cortex as determined by simultaneous EEG and MEG recording. *J Clin Neurophysiol* 2008;25:13-24.
36. Brunner DP, Münch M, Biedermann K, Huch R, Huch A, Borbély AA. Changes in sleep and sleep electroencephalogram during pregnancy. *Sleep* 1994;17:576-82.
37. Aeschbach D, Dijk DJ, Trachsel L, Brunner DP, Borbély AA. Dynamics of slow-wave activity and spindle frequency activity in the human sleep EEG: effect of midazolam and zopiclone. *Neuropsychopharmacology* 1994;11:237-44.
38. Aeschbach D, Dijk DJ, Borbély AA. Dynamics of EEG spindle frequency activity during extended sleep in humans: relationship to slow-wave activity and time of day. *Brain Res* 1997;748:131-6.
39. Driver HS, Dijk DJ, Werth E, Biedermann K, Borbély AA. Sleep and the sleep electroencephalogram across the menstrual cycle in young healthy women. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:728-35.
40. Clemens Z, Fabó D, Halász P. Overnight verbal memory retention correlates with the number of sleep spindles. *Neuroscience* 2005;132:529-35.
41. Schmidt C, Peigneux P, Muto V, et al. Encoding difficulty promotes postlearning changes in sleep spindle activity during napping. *J Neurosci* 2006;26:8976-82.
42. Barakat M, Doyon J, Debas K, et al. Fast and slow spindle involvement in the consolidation of a new motor sequence. *Behav Brain Res* 2011;217:117-21.
43. Tamaki M, Matsuoka T, Nittono H, Hori T. Fast sleep spindle (13-15 Hz) activity correlates with sleep dependent improvement in visuomotor performance. *Sleep* 2008;31:204-11.
44. Steriade M, McCormick DA, Sejnowski TJ. Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science* 1993;262:679-85.
45. Steriade M. The corticothalamic system in sleep. *Front Biosci* 2003;8:878-99.
46. Van Buren JM, Burke RC. Variation and connection of the human thalamus. 1. the nuclei and cerebral connections of the human thalamus. New York: Springer-Verlag, 1972.
47. Guillery RW, Harting JK. Structure and connections of the thalamic reticular nucleus: Advancing views over half a century. *J Comp Neurol* 2003;463:360-71.
48. Behrens TE, Johansen-Berg H, Woolrich MW, et al. Non-invasive mapping of connections between human thalamus and cortex using diffusion imaging. *Nat Neurosci* 2003;6:750-7.
49. Steriade M, Wyzinski P, Apostol V. Corticofugal projections governing rhythmic thalamic activity. In: Frigyesi TL, Rinvik E, Yahr MD, eds. Corticothalamic projections and sensorimotor activities. New York: Raven, 1972:221-72.
50. Bal T, Debay D, Destexhe A. Cortical feedback controls the frequency and synchrony of oscillations in the visual thalamus. *J Neurosci* 2000;20:7478-88.
51. Debay D, Wolfart J, Le Franc Y, Le Masson G, Bal T. Exploring spike transfer through the thalamus using hybrid artificial-biological neuronal networks. *J Physiol Paris* 2004;98:540-58.
52. Brazier M. Interactions of deep structures during seizures in man. In: Petsche U, Brazier M, eds. Mechanisms of synchronization in epileptic seizures. Vienna: Springer, 1972: 409.

53. Montplaisir J, Leduc L, Laverdière M, Walsh J, Saint-Hilaire JM. Sleep spindles in the human hippocampus: normal or epileptic activity? *Sleep* 1981;4:423-8.
54. Wieser HG. Temporal lobe epilepsy, sleep and arousal: stereo-EEG findings. *Epilepsy Res Suppl* 1991;2:97-119.
55. Malow BA, Carney PR, Kushwaha R, Bowes RJ. Hippocampal sleep spindles revisited: physiologic or epileptic activity? *Clin Neurophysiol* 1999;110:687-93.
56. Asano E, Mihaylova T, Juhász C, Sood S, Chugani HT. Effect of sleep on interictal spikes and distribution of sleep spindles on electrocorticography in children with focal epilepsy. *Clin Neurophysiol* 2007;118:1360-8.
57. Baleydier C, Mauguier F. Anatomical evidence for medial pulvinar connections with the posterior cingulate cortex, the retrosplenial area, and the posterior parahippocampal gyrus in monkeys. *J Comp Neurol* 1985;232:219-28.
58. Yeterian EH, Pandya DN. Corticothalamic connections of paralimbic regions in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 1988;269:130-46.
59. DeVito JL. Subcortical projections to the hippocampal formation in squirrel monkey (*Saimira sciureus*). *Brain Res Bull* 1980;5:285-9.
60. Yanagihara M, Ono K, Niimi K. Thalamic projections to the hippocampal formation in the cat. *Neurosci Lett* 1985;61:31-5.
61. Dolleman-Van Der Weel MJ, Witter MP. Projections from the nucleus reuniens thalami to the entorhinal cortex, hippocampal field CA1, and the subiculum in the rat arise from different populations of neurons. *J Comp Neurol* 1996;364:637-50.
62. Cavdar S, Onat FY, Cakmak YO, Yananli HR, Gülçebi M, Aker R. The pathways connecting the hippocampal formation, the thalamic reuniens nucleus and the thalamic reticular nucleus in the rat. *J Anat* 2008;212:249-56.
63. Aggleton JP, Poirier GL, Aggleton HS, Vann SD, Pearce JM. Lesions of the fornix and anterior thalamic nuclei dissociate different aspects of hippocampal-dependent spatial learning: implications for the neural basis of scene learning. *Behav Neurosci* 2009;123:504-19.



Disponible en ligne sur  
**SciVerse ScienceDirect**  
[www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

Elsevier Masson France  
**EM|consulte**  
[www.em-consulte.com/en](http://www.em-consulte.com/en)



ORIGINAL ARTICLE/ARTICLE ORIGINAL

## Discriminating neurological from psychiatric hypersomnia using the forced awakening test

*Le test de réveil forcé : un nouvel outil pour le diagnostic des hypersomnies*

L. Peter-Derex<sup>a,b,\*,e</sup>, F. Perrin<sup>b,c</sup>, T. Petitjean<sup>b,d</sup>,  
L. Garcia-Larrea<sup>b,e</sup>, H. Bastuji<sup>a,b,e</sup>

<sup>a</sup> Unité d'hypnologie, Service de Neurologie Fonctionnelle et d'Épileptologie, Hôpital Neurologique, Centre Hospitalier Est, 59, boulevard Pinel, 69677 Bron, France

<sup>b</sup> Université Claude-Bernard Lyon 1, Lyon, France

<sup>c</sup> Laboratoire des Systèmes Sensoriels et Neurosciences, CNRS UMR 5020, Centre de recherche en Neurosciences de Lyon, Université Lyon 1, Lyon, France

<sup>d</sup> Laboratoire des Troubles Respiratoires du Sommeil, Hôpital de la Croix-Rousse, 103, Grande rue de la Croix-Rousse, 69004 Lyon, France

<sup>e</sup> Intégration centrale de la douleur chez l'homme, Centre de recherche en Neurosciences de Lyon, CNRS UMR 5292, INSERM U 1028, Université Lyon 1, Lyon, France

Received 27 November 2012; accepted 28 April 2013

Available online 9 May 2013

### KEYWORDS

Sleep inertia;  
Event-related  
potentials;  
Hypersomnia

### Summary

**Introduction.** — Sleep inertia refers to the inability to attain full alertness following awakening from sleep and is a major component of hypersomnia. As event-related potentials (ERPs) are correlated to the degree of consciousness, they allow exploring information processing in transitional states of vigilance. Their modifications during forced awakening (FA) context have been shown to reflect sleep inertia.

**Objectives.** — To assess the diagnostic value of a FA test using an oddball stimulation protocol during a nap in a representative sample of patients with excessive daytime sleepiness (EDS).

**Methods.** — One hundred and seventy three patients [30 narcolepsy, 62 idiopathic hypersomnia, 33 sleep apnoea syndrome, and 48 other (mainly psychiatric) hypersomnia] performed an auditory target detection stimulation task during pre-, post-nap wakefulness, and during two successive intra-nap FA while the EEG was simultaneously recorded. Both the accuracy of target detection and the ERPs were evaluated. ERPs during forced awakening test were considered to reflect sleep inertia if they presented with a P300 delay and/or sleep negativities (N350/N550).

**Results.** — Pre-nap behavior and ERPs were normal in all patients. Behavioral results were significantly worse during FA than during wakefulness for all groups of patients. P300 latencies were significantly delayed on FA conditions in each group of patients except the psychiatric group.

\* Corresponding author.

E-mail addresses: [laure.peter-derex@chu-lyon.fr](mailto:laure.peter-derex@chu-lyon.fr), [laure.peter@wanadoo.fr](mailto:laure.peter@wanadoo.fr) (L. Peter-Derex).



**MOTS CLÉS**

Inertie de sommeil ;  
Potentiels évoqués ;  
Hypersomnie

Sensitivity and specificity for detection of sleep inertia were 64% and 94%, respectively, with predictive values of 96% (positive) and 50% (negative).

**Conclusions.** — Our results suggest that the FA test could be helpful as a diagnostic procedure for discriminating neurological from psychiatric hypersomnia.

© 2013 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

**Résumé**

**Introduction.** — L'inertie du sommeil, un des symptômes invalidants des hypersomnies, fait référence à l'état transitoire d'hypovigilance et d'altération des performances qui survient immédiatement après le réveil. Elle peut être explorée par les potentiels évoqués (PE) cognitifs, sensibles à l'état de vigilance du sujet.

**Objectifs.** — Évaluer la valeur diagnostique d'un test de réveil forcé (TRF) utilisant un paradigme de stimulation standard/déviant au cours d'une sieste chez des patients présentant une somnolence diurne excessive.

**Méthodes.** — Cent soixante treize patients (30 narcolepsies, 62 hypersomnies idiopathiques, 33 syndromes d'apnées du sommeil et 48 « autres hypersomnies » principalement psychiatriques) devaient réaliser une tâche de détection auditive d'un stimulus cible en situation d'éveil pré-sieste, puis de réveil forcé à deux reprises au cours d'une sieste et enfin d'éveil post-sieste. Les performances comportementales et les réponses électrophysiologiques (P300) correspondantes étaient évaluées. L'inertie du sommeil était définie, soit par un allongement du temps de latence du P300, soit par un remplacement du P300 par des négativités de sommeil (N350/N550).

**Résultats.** — Au cours de la veille, les performances et les PE étaient normaux chez tous les patients. En situation de réveil forcé les performances se dégradaient dans tous les groupes. Le temps de latence du P300 était plus long en situation de réveil forcé qu'en période de veille sauf dans le groupe « autres hypersomnies ». La valeur du TRF pour le diagnostic d'hypersomnie « non-psychiatrique » était pour le critère « inertie du sommeil » : sensibilité 64 %, spécificité 94 %, valeur prédictive positive 96 %, valeur prédictive négative 50 %.

**Conclusion.** — Le TRF est un test rapide, spécifique, pouvant permettre de discriminer hypersomnies neurologiques et psychiatriques.

© 2013 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

**Introduction**

The diagnosis of hypersomnia requires clinical and paraclinical criteria (American Academy of Sleep Medicine, ISCD II, 2005) [3]. Among the latter, the Multiple Sleep Latency Test (MSLT) is a standard method that has been designed to measure sleepiness. Sleepiness corresponds to a state of "sleep need", whose intensity is evaluated by how rapidly sleep onset occurs [9]. A mean sleep latency (MSL) below 8 minutes, recorded on five scheduled naps in standardized laboratory conditions, is considered to be pathological [17]. Nevertheless, the MSLT has numerous limitations [15]. First, short sleep latencies can be found in healthy adults without abnormal sleepiness [7,11]. Second, the discrimination between patients with sleep disorders and normal populations relies on group-based studies, which emphasized the difficulty to establish a specific threshold in individual patients because of the wide range in MSL values among the population [2,22]. Third, the MSLT results can be affected by miscellaneous physiological, psychological, and test protocol variables [29]. These limitations underscore the importance of developing novel techniques to explore hypersomnia. The MSLT investigates sleep propensity but does not assess sleep inertia, which is another major component of hypersomnia [19,23]. Sleep inertia refers to the inability to attain full alertness upon awakening from sleep [28]. Patients with excessive sleep inertia report feeling drowsy and describe difficulty to concentrate on awakening. Behavioral tools have been developed to measure the

reduced vigilance that is associated with sleep inertia. Such tests (calculation, reaction time...) performed immediately after sleep episodes provided information about factors of variation and time course of sleep inertia, which gradually decrease during the first hour after abrupt awakening [1]. The sleep stage before awakening influences the magnitude of sleep inertia, deeper sleep with high delta power being associated with subsequent performance impairment and increased latency of the P300 event-related potential (ERP) [26,27]. Indeed, as ERPs allow tracing the extent of information processing during different states of consciousness, they constitute a relevant technique for measuring sleep inertia [6]. In particular, the "P300" component, which is elicited when an attended infrequently "target" stimulus is detected, has been known to reflect attentional and memory processes of information, its latency being a marker of stimulus evaluation time [8,19,20]. P300 progressively vanishes during the transition from waking to sleep, and its deterioration parallels the behavioral deterioration of target detection [4]. During non-REM sleep the P300 is delayed and often replaced by so-called "sleep negativities", which are commonly labelled "N350" and "N550", according to their latency [5,8,24]. Thus, ERPs represent a useful tool to explore abnormalities of the sleep-wake transition. Bastuji et al. developed the forced awakening (FA) test to estimate both sleep propensity and sleep inertia in the context of a short afternoon nap [6]. While in controls, P300 latency was not significantly longer on FA than on wakefulness, increased P300 latency or presence of sleep negativity (i.e. abnormal

**Table 1** Demographic and clinical data.

	Number of patients	Female (n/%)	Age (mean years $\pm$ sd range min–max)	MSLT result (mean latency [min]) $n^a$	ESS $n^b$
Narcolepsy	30	19/63	30.3 $\pm$ 12.8 17–62	5.6 $\pm$ 2.3 ( $n=12$ )	16.6 $\pm$ 3.4 ( $n=14$ )
Idiopathic hypersomnia	62	37/60	33.3 $\pm$ 14.3 17–80	7.9 $\pm$ 3.5 ( $n=42$ )	17.0 $\pm$ 4.1 ( $n=44$ )
Sleep apnoea syndrome	33	7/21	49.4 $\pm$ 12.7 22–73	9.0 $\pm$ 3.2 ( $n=10$ )	14.9 $\pm$ 3.8 ( $n=27$ )
Other hypersomnia	48	35/73	38 $\pm$ 14.4 16–73	13.2 $\pm$ 3.2 ( $n=28$ )	14.5 $\pm$ 4.0 ( $n=33$ )
Total	173	98/57	37.1 $\pm$ 15.1 16–80	9.3 $\pm$ 4.2 ( $n=93$ )	15.8 $\pm$ 4.0 ( $n=118$ )

MSLT: Multiple Sleep Latency Test.

<sup>a</sup> Number of patients with available MSLT results.<sup>b</sup> Number of patients with available ESS score.

ERPs on FA) were reported in 65% of patients complaining of excessive daytime sleepiness (EDS). These abnormal patterns of ERPs after FA were considered as signs of acute sleep inertia. The authors suggested that routine ERP evaluation using a forced awakening (FA) test could be helpful as a diagnostic procedure for hypersomnia, especially since the FA test is easy to implement in sleep laboratories. The main purpose of the present study was to assess the diagnostic usefulness of the FA test, in terms of sensitivity, specificity and predictive values, in a large and representative group of patients including the main disease categories encountered in the clinics, i.e., narcolepsy, idiopathic hypersomnia, sleep apnoea syndrome, and psychiatric or behavioral hypersomnia.

## Patients and methods

One hundred and seventy three patients (98 women), mean age  $37.1 \pm 15.1$  years (range 16–80) admitted in our sleep unit for EDS assessment were prospectively included in this study between 1994 and 2008.

## Diagnostic assessment

Demographic and clinical characteristics of patients are summarized in Table 1. In most patients, final diagnosis was not known at the time of the FA test since the whole clinical and paraclinical investigations had not yet been completed. Upon completion of the diagnosis workout, 30 (17%) patients were categorized as narcoleptics (N) (18 with cataplexy at the time of the diagnosis) according to the International classification of Sleep Disorders criteria-2 [3]. Sixty-two patients (36%) patients had idiopathic hypersomnia (IH) (19 with long sleep time). In this group, three patients were suspected of suffering from possible "symptomatic" hypersomnia: one case of panhypopituitarism, one pineal tumour, and one brain trauma with extradural haemorrhage. Thirty-three (19%) patients had sleep apnoea syndrome (SAS), with a mean apnoea-hypopnoea index of  $57.9 \pm 27.1$  per hour (range 17–120). Forty-eight (28%) patients were classified as

having "other hypersomnia" (OH). This latter group refers to patients complaining from EDS, whose characteristics did not meet N, IH, or SAS criteria and included EDS associated with psychiatric disorders ( $n=44$ ) or sleep deprivation ( $n=4$ ).

## Forced awakening test

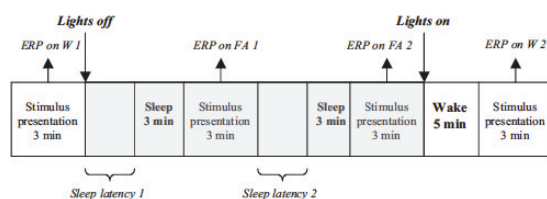
### Stimulation and recording

The FA test oddball stimulation protocol is described in detail elsewhere [6]. Briefly, auditory stimuli (tone bursts) were delivered binaurally at 70 dB hearing level (HL) through inserted earphones (Europ-Sonic®, Roanne, France). Ninety percent of stimuli were "non-target" 1000 Hz tones to be ignored, and 10% were "target" tones of 2000 Hz, to be detected and counted. Inter-stimulus interval randomly varied between 1125 and 1375 ms. Each recording run lasted about 3 minutes and comprised 15–20 target stimuli. Brain activity was recorded with Fz, Cz, Pz, and Oz scalp tin electrodes according to the International "10–20" System, and referenced to the nose [14]. ERPs were offline averaged according to stimulation type (target, non-target), condition (W-1, FA-1, FA-2, W-2, see below), and analysed using a Micromed BrainQuick® software (Saint-Étienne-des-Oullières, France).

### Experimental procedure

The test was performed between 2 and 3 p.m., with patients lying on a bed in a dimly illuminated room. Patients were instructed to count silently the number of infrequent high-pitched (target) tones (Fig. 1). A first series of stimulations was performed before the nap (wakefulness-1 = W-1). Then, patients were prompted to take a nap and a second series was performed after 3 minutes of continuous EEG-monitored sleep (forced awakening-1 = FA-1). Sleep latency was calculated as the time elapsed from lights off to sleep onset, which was defined as the onset of Stage I, according to the AASM criteria [13]. After completion of the stimulation run the subjects were allowed to continue their nap. If a subject did not have a full epoch of 3–4 minutes stable sleep





**Figure 1** Experimental procedure. Event-related potentials (ERPs) were first recorded during wakefulness (wakefulness-1=W-1). Then, with lights off, the subjects were prompted to take a nap and after 3 minutes of continuous sleep were suddenly awakened by a new series of stimuli (forced awakening-1=FA-1). After completion of the stimulation run, if sleep was obtained anew, the procedure was repeated (forced awakening-2=FA-2). Then, with lights on, a last recording run was obtained during wakefulness, 5 minutes after the end of the nap period (wakefulness-2=W-2).

within the allowed 20 minutes, he was not stimulated. If sleep was obtained anew, the procedure was repeated, i.e. the patients were stimulated again after 3 minutes of continuous sleep (forced awakening-2=FA-2). After this second run, the nap was interrupted and the patients immediately asked whether they remembered to have been stimulated during the nap, and, if it was the case, which was the number of target stimuli they were able to remember. After complete debriefing and with lights open, a last recording run was obtained with the subjects fully awake, 5 minutes after the end of the nap period (wakefulness-2=W-2).

#### Behavioral evaluation

The number of correct detections was verified after the run, by comparing the number of targets detected with that actually delivered, which allowed to determine a percentage of errors ( $(\text{delivered target} - \text{counted target}) / \text{delivered target}$ )

for all conditions (W-1, FA-1, FA-2, and W-2). Test results were classified as follows:

- "good":  $\leq 10\%$  of errors;
- "errors":  $10\text{--}80\%$  of errors;
- "failing":  $\geq 80\%$  of errors.

#### Event-related potential recording

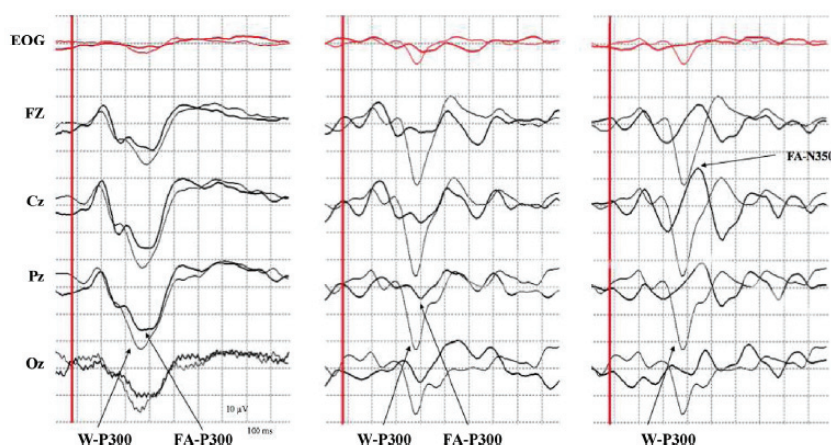
The P300 was identified as the maximal positivity within the 280–470 ms interval, with central–parietal midline predominance [12]. Three categories of electrophysiological responses on FA test were defined (Fig. 2):

- normal P300 (P300 latency difference between W-1 and FA  $< 40$  msec);
- P300 delay (latency difference between W-1 and FA  $\geq 40$  msec);
- sleep negativities: replacement of the P300 wave by high-amplitude negativities (N350 and/or N550).

The 40-ms threshold for abnormal P300 delay corresponds to the 99.9% upper confidence limit for P300 delay in FA relative to W-1 that we obtained in a control group of 21 subjects (mean age  $23.9 \pm 3.8$ ) [6]. P300 amplitude was not analyzed in this study since it had been shown to be less discriminating than P300 latency [6].

#### Criteria for classification of forced awakening test results

If the patient did not have a full epoch of 3–4 minutes stable sleep within the allowed 20 minutes, the test was terminated and considered as normal. If a first nap was obtained, but the patient did not manage to fall asleep a second time within 20 minutes after FA-1, the results of the first test were taken into account. If two sleep periods were obtained, the results indicating a stronger sleep propensity/inertia were taken into account. The test was considered as "abnormal" in case of (1) P300 delay and/or sleep negativity (indicating



**Figure 2** Examples of event-related potentials during forced awakening. Three situations are depicted: normal FA-P300 (right); delayed FA-P300 of decreased amplitude (middle); replacement of P300 by a negativity (N350) (left). Bold line: forced awakening recording (FA)/thin line: wakefulness recording (W).

H. Bastuji. Le test de réveil forcé: une nouvelle méthode d'exploration de la vigilance. *Médecine du Sommeil* 2006; 7:41–44.

Table 2 Behavioral data and sleep propensity.

Patients	Sleep obtained (%)	Mean sleep latency (min) $\pm$ sd <sup>a</sup>	Percentage of patients with a sleep latency $\leq$ 8 minutes among patients who reached sleep	Stage II obtained (%) <sup>b</sup>	Mean percentage of errors $\pm$ sd
<b>Narcolepsy (n = 30)</b>					
FAT-1	93	4.4 $\pm$ 5.0	93	73	45.3 $\pm$ 39.6
FAT-2	80	4.6 $\pm$ 7.9	100	100	64.3 $\pm$ 42.0
<b>Idiopathic hypersomnia (n = 62)</b>					
FAT-1	94	5.6 $\pm$ 5.1	86	72	22.3 $\pm$ 31.3
FAT-2	73	10.3 $\pm$ 7.4	98	91	56.2 $\pm$ 40.8
<b>Sleep apnoea syndrome (n = 33)</b>					
FAT-1	97	5.7 $\pm$ 4.9	88	69	20.1 $\pm$ 30.9
FAT-2	64	8.6 $\pm$ 9.0	95	76	29.3 $\pm$ 31.5
<b>Other hypersomnia (n = 48)</b>					
FAT-1	67	13.6 $\pm$ 6.2	37.5	37.5	10.9 $\pm$ 23.4
FAT-2	21	16.9 $\pm$ 6.6	70	50	17.1 $\pm$ 33.9

<sup>a</sup> Including patients who did not fall asleep (sleep latency = 20 minutes).<sup>b</sup> Among patients who fall asleep.

sleep inertia) AND/OR (2) sleep latency  $\leq$  8 minutes (indicating excessive daytime sleepiness).

### Statistical analyses

Between-group comparisons of sleep latency and percentage of errors were performed using Kruskal-Wallis (KW) test (if more than two samples were compared) or Mann-Whitney (MW) test (two samples). When needed, post-hoc comparisons between stimulation conditions in a given group were performed using Wilcoxon test. We used Chi square test to assess association between behavioral data ('good', 'errors', 'failing') and the type of ERP responses (Normal, P300 delay, Sleep negativities). Linear regression was performed to analyse the correlation between P300 latency and percentage of errors. Significance level was set at  $P < 0.05$ . Sensitivity, specificity and predictive values were calculated according to the final diagnosis of hypersomnia, i.e. 'non-psychiatric hypersomnia' (N, SAS and IH) versus 'psychiatric (or behavioral) hypersomnia'.

### Results

#### Measure of daytime sleepiness (sleep propensity)

Ninety-three percent of N, 94% of IH, and 97% of SAS patients fall asleep on FA-1 whereas only 67% of OH patients did. As shown in Table 2, mean sleep latencies were for N: 4.4  $\pm$  5 minutes, for IH: 5.5  $\pm$  5 minutes, for SAS: 5.7  $\pm$  5 minutes, and for OH group: 13.6  $\pm$  6 minutes. Comparison of sleep latencies showed significant overall differences ( $P < 0.0001$ ). Post-hoc tests showed no difference among N, SAS and IH groups, whereas sleep latency in each of these groups was significantly shorter than that in the OH group (MW, 'OH' vs. N patients  $P < 0.001$ ; vs. SAS  $P < 0.001$ , vs. IH  $P < 0.001$ ).

#### Sleep inertia

##### Behavioral data

During wakefulness, the percentage of error did not significantly differ either between groups of patients on W-1 and W-2 (KW,  $P > 0.05$ ), or between W-1 and W-2 in any given group (Wilcoxon  $P > 0.05$ ) (Fig. 3). In all groups, behavioral results were significantly worse on FA-1 and FA-2 than on W-1. On FA-1, N patients had significantly worse performances in comparison to other groups of patients. On FA-2, SAS patients had significantly better performances as compared to both N and IH patients. IH was the only group to have significantly worse performances on second test as compared to the first one (22.7  $\pm$  31.5 vs. 56.2  $\pm$  40.8, Wilcoxon  $P < 0.0001$ ).

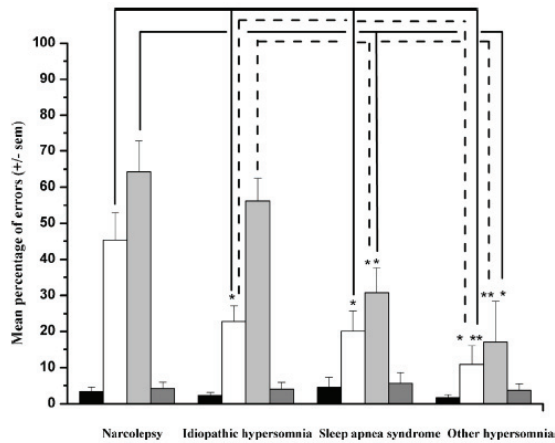
##### Event-related potentials at wakefulness

No significant differences were observed in P300 latencies between W-1 and W-2 in either group of patients (Wilcoxon,  $P > 0.05$ ). P300 latencies (Fig. 4A) did not significantly differ between the four groups of patients for W-1 but were significantly different for W-2 (KW,  $P < 0.001$ ): P300 latencies were delayed in SAS and N patients as compared to IH and OH patients (MW,  $P < 0.05$  for each comparison).

##### Event-related potentials at force awakening test

**Event-related potential patterns.** Patients could exhibit the three patterns of FA-ERPs (Fig. 2): normal P300, delayed P300, or sleep negativities (with or without persistence of a delayed P300). Distribution of ERP results is as follow: normal P300 was found in 20% of N, 37% of IH, 49% of SAS and 94% of OH patients. Delayed P300 was found in 20% of N, 21% of IH, 30% of SAS and none OH patients. Sleep negativities were recorded in 60% of N, 42% of IH, 21% of SAS and 6% of OH patients. Most patients with sleep inertia had excessive daytime sleepiness; nevertheless, four patients (three with

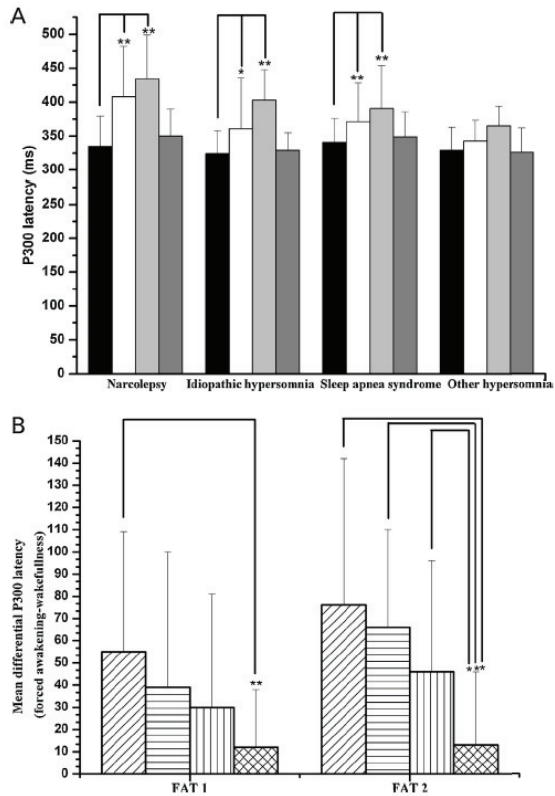




**Figure 3 Behavioral data: inter-group comparisons.** Mean percentages of errors ( $\pm$  sem) among four groups of patients in different stimulation conditions are presented (black=W-1; white=FA-1; light grey=FA-2; dark grey=W-2): in all groups of patients behavioral results were significantly worse on FA-1 and FA-2 than on W-1 (Wilcoxon FA-1 vs. W-1:  $P < 0.0001$  in Narcolepsy,  $P < 0.0001$  in idiopathic hypersomnia,  $P < 0.01$  in sleep apnoea syndrome patients,  $P < 0.01$  in other hypersomnia; Wilcoxon. FA-2 vs. W-1:  $P < 0.0001$  in narcoleptic patients,  $P < 0.0001$  in idiopathic hypersomnia,  $P < 0.0001$  in sleep apnoea syndrome patients,  $P < 0.05$  in other hypersomnia). On FA-1 narcoleptic patients had significantly worse performances in comparison to other groups of patients (Kruskal-Wallis  $P < 0.01$ ; Mann-Whitney  $P < 0.05$  vs. idiopathic hypersomnia;  $P < 0.01$  vs. sleep apnoea syndrome patients;  $P < 0.005$  vs. other hypersomnia patients) and idiopathic hypersomnia patients had worse performances than other hypersomnia (Mann-Whitney  $P < 0.05$ ). On FA-2, narcoleptic patients and idiopathic hypersomnia had significantly worse performances in comparison to sleep apnoea syndrome patients (respectively Mann-Whitney  $P < 0.01$  and  $P < 0.05$ ) and other hypersomnia (respectively Mann-Whitney  $P < 0.01$ ,  $P < 0.005$ ). No differences were observed between narcoleptic patients and idiopathic hypersomnia. \*  $P < 0.05$ . \*\*  $P < 0.005$ .

IH and one with SAS) exhibited sleep inertia despite normal sleep latency.

**Event-related potential latencies.** One should first note that among patients with sleep inertia, P300 latency could only be measured in case of "P300 delay" or "Sleep negativity plus P300 delay". Indeed, some patients, mainly in N group, had only "sleep negativities" without identifiable P300, which prevented us from including them in the below described latency analysis. P300 latencies did not differ between FA-1 and FA-2 in all groups of patients (Fig. 4A and 4B). In each group of patients, except in OH group, P300 latencies on FA-1 and FA-2 were significantly delayed as compared to wakefulness 1. Between-group analyses showed that differences between "FA P300 latencies" and "W P300 latencies" were significantly higher in narcoleptic patients than in OH on FA-1 and in N, HI and SAS patients than in OH on FA-2.



**Figure 4 P300 results.** A. Intra-group comparisons. Mean P300 latency ( $\pm$  sd) among four groups of patients in different stimulation conditions are presented (black=wakefulness 1; white=forced awakening 1; light grey=forced awakening 2; dark grey=wakefulness 2): P300 is significantly delayed in forced awakening conditions 1 and 2 (in comparison with W-1) except in other hypersomnia group (Wilcoxon: for FA-1 and FA-2 respectively:  $P < 0.0005$  and  $P < 0.0001$  in narcolepsy,  $P < 0.01$  and  $P < 0.0001$  in idiopathic hypersomnia,  $P > 0.05$  and  $P < 0.01$  in sleep apnoea syndrome). B. Inter-group comparisons. Mean P300 delay (defined as the difference between P300 latency at forced awakening test and at wakefulness test) ( $\pm$  sd) in the four groups. This P300 delay was significant in narcoleptic patients as compared with other hypersomnia patients for FA-1 (Kruskal-Wallis,  $P < 0.05$ ; Mann-Whitney,  $P < 0.001$ ). For FA-2, significant P300 delay was observed in narcolepsy, idiopathic hypersomnia and sleep apnoea syndrome patients in comparison with other hypersomnia patients (Kruskal-Wallis  $P < 0.005$ ; Mann-Whitney  $P < 0.01$ ,  $P < 0.01$  and  $P < 0.05$  respectively). (oblique hatching = narcolepsy, horizontal hatching = idiopathic hypersomnia, vertical hatching = sleep apnoea syndrome, cross hatching = other hypersomnia). \*  $P < 0.05$ . \*\*  $P < 0.005$ .

### Correlation between behavioral and electrophysiological data

The distribution of behavioral data ("good", "errors", "failing") was significantly different among the three electrophysiological response categories ("normal", "P3

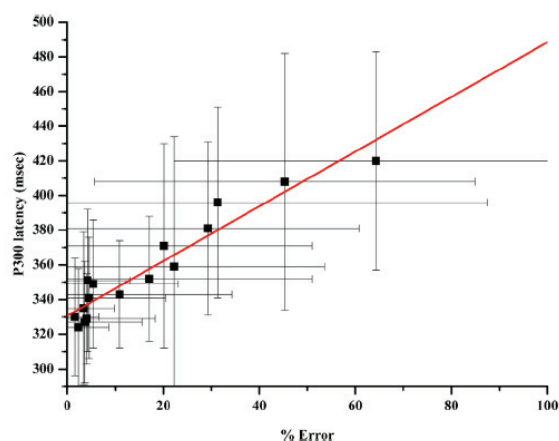


Figure 5 Correlation between P300 latency and behavioral performance. Each point represents the mean P300 latency (msec) and the mean percentage of errors in a condition of stimulation (W-1, W-2, FA-1, FA-2) for a group of patients (narcolepsy, idiopathic hypersomnia, sleep apnoea syndrome and other hypersomnia). Linear regression,  $R = 0.95$ ,  $P < 0.0001$ .

delay", "Sleep N") ( $\chi^2$ ;  $P < 0.0001$ ). Considering all situations (FA-1 and FA-2, W-1 and W-2) in all four groups of patients, a significant positive correlation was found between P300 latency and the percentage of errors (linear regression,  $R = 0.95$ ,  $P < 0.0001$ ) (Fig. 5). Nevertheless, there could be a mismatch between behavioral performances and electrophysiological responses in some patients. Indeed, 15 patients made errors whereas the P3 was normal (12 patients with "non-psychiatric" hypersomnia). On the other hand, 14 patients had a normal behavioral response whereas the electrophysiological response was abnormal (14 patients with "non-psychiatric" hypersomnia).

#### Sensitivity, specificity and predictive value of the forced awakening test

The result of the test was considered to be abnormal in case of significant sleep inertia and/or excessive daytime sleepiness, according to the criteria described in the Methods. Distribution of FAT results among groups of patients is pictured on Fig. 6.

Sensitivity, specificity and predictive value were calculated according to the final diagnosis of hypersomnia, i.e. "non-psychiatric hypersomnia" (N, SAS and IH) versus "psychiatric (or behavioral) hypersomnia". Sensitivity and specificity for the detection of sleep inertia were 64% and 94%, with predictive values of 96% (positive) and 50% (negative). The outcome "sleep inertia and/or sleep propensity" had sensitivity and specificity of 86% and 75%, with predictive values of 90% (positive) and 68% (negative).

#### Discussion

This study aim was to assess the diagnostic value of the FA test as a tool to measure sleep inertia, in 173 patients

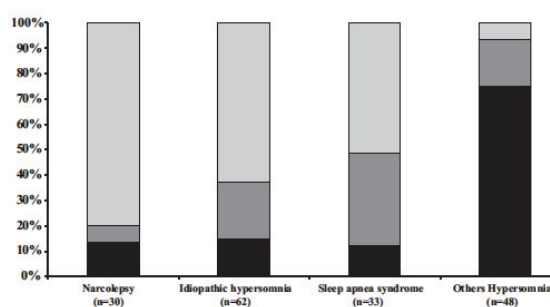


Figure 6 Distribution of force awakening test results among groups of patients black=normal; dark gray=sleep propensity (sleep latency  $\leq 8$  minutes) without sleep inertia; light gray=sleep inertia (P300 delay and/or Sleep negativity).

complaining from EDS. We found that 96% of patients with sleep inertia had either narcolepsy, idiopathic hypersomnia or sleep apnoea syndrome and that 68% of patients with a normal FA test had others types of hypersomnia i.e. mainly psychiatric hypersomnia. Thus, the presence of sleep inertia was the best predictor of a non-psychiatric hypersomnia but the normality of the test did not rule out a non-psychiatric hypersomnia.

The use of cognitive evoked potentials in clinical practice is limited by the large overlap between normal and abnormal values, which can lead to ambiguous results. P300 determination in a single patient in different conditions overcomes this pitfall and allows assessing the dynamics of information processing across different states of vigilance. Although several studies suggested a baseline impairment of ERPs in narcolepsy, potentially reflecting sleepiness and comparable to that observed in sleep-deprived subjects [21], other authors only reported abnormal P300 latency in idiopathic hypersomnia and sleep apnoea [25]. In our study, baseline P300 remained within normal limits and did not significantly differ among the four groups of patients. Wakefulness P300 of patients with SAS and N only differed from other groups on post-sleep test (W-2). This argues for slower sleep inertia dissipation after awakening in these patients, which looks a bit surprising, as sleep inertia is thought to be more pronounced in IH than in N or SAS. However, in IH, sleep inertia is usually more present after an extended period of sleep.

Few studies investigated the value of P300 in measuring sleep inertia after forced awakening. Takahashi and Arito showed, in controls, that sleep inertia is associated with P300 latency increase immediately after the naps [26]. Kaida et al. reported that P3 amplitude was significantly lower, and subjective sleepiness was significantly higher after forced awakening than self-awakening upon a 20 minutes nap [16]. These data suggest that P300 characteristics correlate to the subjective feeling of sleep inertia in healthy people. In sleep medicine, sleep inertia has long-time been associated with IH but also with narcolepsy [19,23]. "Sleep drunkenness" could be related either to sleep pressure or to a pathological inability of the arousal system to restore full and rapid awakening. Surprisingly, studies devoted to sleep inertia measurement in patients are scarce, or just



limited to behavioral assessment [18]. In this study, we propose a simple neurophysiological test, which explores the transitional state between sleep and arousal. Our results highlight hypersomniac patients inability to obtain a fast normal cognitive arousal and emphasizes the fact that such pathologies affect both wake-sleep and sleep-wake transition. Conversely, hypersomnia associated with psychiatric conditions does not seem to have the same sleep-wake transition impairment.

Impact of wake-promoting treatment has not been specifically assessed in our study. In most patients, a drug washout was performed a few days before the forced awakening test. For 13/173 patients, psychostimulant agents (modafinil and methylphenidate) had not been discontinued; about half (7/13) had abnormal responses. We do not believe this could have an impact on the overall results. Nevertheless, the question of the effect of wake-promoting drugs on sleep inertia deserves to be specifically investigated.

A limitation in the interpretation of FA test results is the fact that a certain amount of sleep propensity is required to assess sleep inertia. Indeed, 26% patients did not reach continuous sleep and did not undergo any FA test. Among them, a majority had "other hypersomnia"; given the result of FA test in this group of patients, we can assume that the test would have been normal. Nevertheless, about one third of the patients who did not sleep during the test had "neurological" hypersomnia. It is possible that some patients were anxious about the task and their ability to count, which could have prevented them from falling asleep. This is why we stress on the need to reinsure the patients before the test and to inform them that the test is equally useful if they do not hear anything during their nap. Another limitation is that the diagnostic value of the FAT was established in reference to "gold standard" diagnosis criteria, which, of course, do not have 100% sensibility and specificity. Moreover, during the long period of recruitment of our patients, diagnosis recommendations have evolved, especially regarding MSLT [9,10]. This explains the heterogeneity in available paraclinical data in our patients. Nevertheless, this long period of inclusion is associated with a long follow-up period, which often increases diagnosis accuracy. Finally, sleep inertia was often but not necessarily correlated with EDS, as 37 patients had EDS without sleep inertia and four patients had sleep inertia without EDS.

In conclusion, the high specificity of the forced awakening test makes it a good tool for discriminating neurological from psychiatric hypersomnia. It seems especially useful in idiopathic hypersomnia, in which nosological boundaries are less well delineated, or in case of borderline MSLT results. In addition, this non-invasive test is complementary to MSLT as it explores another component of hypersomnia, i.e. sleep inertia, which was not previously quantified whereas numerous patients complain from it.

## Disclosure of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest concerning this article.

This study was performed at the Hôpital Neurologique, Centre Hospitalier Est, 59, boulevard Pinel, 69677 Bron, France without any financial support.

## Acknowledgements

The authors are grateful to the Institut de France – Fondation NRJ for support via the Neurosciences Award (Grand Prix de Neurosciences) 2009.

## References

- [1] Achermann P, Werth E, Dijk DJ, Borbely AA. Time course of sleep inertia after nighttime and daytime sleep episodes. *Arch Ital Biol* 1995;134:109–19.
- [2] Aldrich MS, Chervin RD, Malow BA. Value of the multiple sleep latency test (MSLT) for the diagnosis of narcolepsy. *Sleep* 1997;20:620–9.
- [3] American Academy of Sleep Medicine. International classification of sleep disorders. In: Diagnostic and coding manual. 2nd ed. Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine; 2005.
- [4] Bastuji H, García-Larrea L, Franc C, Mauguère F. Brain processing of stimulus deviance during slow-wave and paradoxical sleep: a study of human auditory evoked responses using the oddball paradigm. *J Clin Neurophysiol* 1995;12:155–67.
- [5] Bastuji H, García-Larrea L. Evoked potentials as a tool for the investigation of human sleep. *Sleep Med Rev* 1999;3:23–45.
- [6] Bastuji H, Perrin F, García-Larrea L. Event-related potentials during forced awakening: a tool for the study of acute sleep inertia. *J Sleep Res* 2003;12:189–206.
- [7] Bonnet MH, Arand DL. Impact of motivation on Multiple Sleep Latency Test and Maintenance of Wakefulness Test measurements. *J Clin Sleep Med* 2005;1:386–90.
- [8] Campbell K. Event-related potentials as a measure of sleep disturbance: a tutorial review. *Noise Health* 2010;12:137–53.
- [9] Carskadon MA, Dement WC, Mitler MM, Roth T, Westbrook PR, Keenan S. Guidelines for the multiple sleep latency test (MSLT): a standard measure of sleepiness. *Sleep* 1986;9:519–24.
- [10] Guilleminault C, Mignot E, Partinen M. Controversies in the diagnosis of narcolepsy. *Sleep* 1994;17:51–6.
- [11] Harrison Y, Bright V, Horne JA. Can normal subjects be motivated to fall asleep faster? *Physiol Behav* 1996;60:681–4.
- [12] Heinze HJ, Münte TF, Kutas M, et al. Cognitive event-related potentials. In: G. Deuschl, A. Eisen (Eds.) Recommendations for the Practice of Clinical Neurophysiology: guidelines of the International Federation of Clinical Neurophysiology. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1999; 52:91–5.
- [13] Iber C, Ancoli-Israel S, Chesson AL, Quan SF. The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology and technical specifications. Westchester, Ill: American Academy of Sleep Medicine; 2007.
- [14] Jasper HH. The ten-twenty electrode system of the International Federation. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 1958;10:371–5.
- [15] Johns MW. Sensitivity and specificity of the multiple sleep latency test (MSLT), the maintenance of wakefulness test and the Epworth sleepiness scale: failure of the MSLT as a gold standard. *J Sleep Res* 2000;9:5–11.
- [16] Kaida K, Nittono H, Hayashi M, Hori T. Effects of self-awakening on sleep structure of a daytime short nap and on subsequent arousal levels. *Percept Mot Skills* 2003;97:1073–84.
- [17] Littner MR, Kushida C, Wise M, et al. Standards of Practice Committee of the American Academy of Sleep Medicine. Practice parameters for clinical use of the multiple sleep

- latency test and the maintenance of wakefulness test. *Sleep* 2005;28:113–21.
- [18] Mazzetti M, Campi C, Mattarozzi K, et al. Semantic priming effect during REM-sleep inertia in patients with narcolepsy. *Brain Res Bull* 2006;71:270–8.
- [19] Mullington J, Broughton R. Daytime sleep inertia in narcolepsy-cataplexy. *Sleep* 1994;17:69–76.
- [20] Picton TW. The P300 wave of the human event-related potential. *J Clin Neurophysiol* 1992;9:456–79.
- [21] Pressman MR, Spielman AJ, Pollak CP, Weitzman ED. Long-latency auditory evoked responses during sleep deprivation and in narcolepsy. *Sleep* 1982;5:S147–56.
- [22] Roehrs T, Roth T. Multiple Sleep Latency Test: technical aspects and normal values. *J Clin Neurophysiol* 1992;9:63–7.
- [23] Roth B, Nevsimalova S, Rechtschaffen A. Hypersomnia with "sleep drunkenness". *Arch Gen Psychiatry* 1972;26:456–62.
- [24] Salisbury D, Squires NK, Ibel S, Maloney T. Auditory event-related potentials during stage 2 NREM sleep in humans. *J Sleep Res* 1992;1:251–7.
- [25] Sangal RB, Sangal JM. P300 latency: abnormal in sleep apnea with somnolence and idiopathic hypersomnia, but normal in narcolepsy. *Clin Electroencephalogr* 1995;26:146–53.
- [26] Takahashi M, Arito H. Sleep inertia and autonomic effects on post-nap P300 event-related potential. *Ind Health* 1998;36:347–53.
- [27] Tassi P, Bonnefond A, Engasser O, Hoeft A, Eschenlauer R, Muzet A. EEG spectral power and cognitive performance during sleep inertia: the effect of normal sleep duration and partial sleep deprivation. *Physiol Behav* 2006;87:177–84.
- [28] Tassi P, Muzet A. Sleep inertia. *Sleep Med Rev* 2000;4:341–53.
- [29] Wise MS. Objective measures of sleepiness and wakefulness: application to the real world? *J Clin Neurophysiol* 2006;23:39–49.

## CURRICULUM VITAE

### Dr Laure PETER-DEREX

18 avenue Debrousse, 69005 LYON  
Tel : 06-76-63-60-04  
E-mail : laure.peter-derex@chu-lyon.fr  
Née le 04/10/1977 à MONTBELIARD  
Nationalité Française

N° Conseil de l'Ordre : 21156 N° ADELI : 691211569 N°RPPS : 10004399597

## SITUATION ACTUELLE

### Médecin Neurologue

**Praticien Hospitalier Temps Partiel (60%) au CHU de LYON, Service de Neurologie-sommeil, Hôpital Lyon Sud, Pierre Bénite**  
**Praticien Attaché (40%) dans le service de Neurologie fonctionnelle et d'épileptologie, Hôpital Neurologique, Bron.**  
**Gardes de Neurologie Vasculaire à l'Hôpital neurologique, Bron.**

**Chargée d'enseignement en neurologie à la faculté Lyon Est.**

**Doctorante en Neurosciences, 4<sup>ème</sup> année,** (Ecole doctorale 476 Neurosciences et Cognition. CoDirecteurs de thèse M. Magnin et H. Bastuji. Unité « Intégration Centrale de la Douleur chez l'Homme », INSERM U1028/ CNRS 5292 Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon): ***Etude des micro-éveils par enregistrements intra-cérébraux***

## DIPLOMES – FORMATION – BOURSES

- **2013 : PHRC inter-régional PEACH** (Prevention of Epileptic seizure in Acute Cerebral Hemorrhage): investigateur principal
- **2012 : Bourse de recherche** de la Société Française de Recherche et de Médecine du Sommeil
- **2008-2012 : Chef de Clinique –Assistante** dans le service de neurologie fonctionnelle et d'épileptologie, Hôpital Neurologique (Pr Mauguière)
- **2007: Année médaille d'Or de l'Internat en Médecine** des Hospices Civils de Lyon
- **2007: Validation du Diplômes d'Etudes Spécialisées de Neurologie**  
*Thèse de doctorat en médecine* « les épilepsies temporales sans atrophie hippocampique: aspects électro-cliniques et enjeux chirurgicaux » mention très honorable avec les félicitations du jury (Université Lyon 1)
- **2006: Master 2-Recherche en Neurosciences.** Mention Très Bien (rang : Major)
- **2005: Diplôme inter-universitaire** de neurophysiologie clinique (rang : Major)
- **2004: Diplôme inter-universitaire** national de pathologie du sommeil
- **2002: Diplôme inter-universitaire** régional de physiologie et pathologie du sommeil  
*Diplôme universitaire* de psychologie médicale.
- **2001: Concours de l'Internat en médecine.**  
*Certificat de Synthèse Clinique et Thérapeutique à Strasbourg.*



**Maîtrise de sciences biologiques et médicales** (Certificat de Psychobiologie des Comportements (2000), Certificat de Physiologie cellulaire, moléculaire et intégrée (1999), Certificat d'Anatomie et Organogenèse (1998), Certificat de Biochimie générale (1997)).

## TITRES ET TRAVAUX

### ▪ *Articles publiés ou en cours*

- Laurencin C., André-Obadia N., Camdessanche J.C., Mauguière F., Ong E., Vukusic S., Peter-Derex L., Meyronet D., Bouhour F., Vial C., Ducray F., Honnorat J., and Petiot P. Peripheral small fiber dysfunction and neuropathic pain in patients with Morvan syndrome. **Neurology**, *In Press*
- Pickering ME, Chapurlat R, Kocher L, Peter-Derex L. Sleep disturbances and osteoarthritis. **Pain Practice**, *In Press*
- Felix S, Thobois S, Peter-Derex L. REM sleep behavior disorder symptomatic of a brainstem cavernoma. **Journal of Sleep Research**, *In Press*.
- Peter-Derex L., Magnin M. Bastuji, H. Heterogeneity of arousals in human sleep: a stereo-electroencephalographic study. **Neuroimage**. 2015; 123: 229-44.
- Maison O, De la Gastine B, Peter-Derex L., Berger C, Goutelle S. [Subcutaneous administration of levetiracetam in geriatrics]. **Rev Neurol (Paris)**. 2015; 171: 398-9.
- Peter-Derex L., Yammine P, Bastuji H, Croisile B. Sleep and Alzheimer Disease. 2015 **Sleep Med Rev**. 2015; 19 :29-38.
- Peter-Derex L., Perrin F, Petitjean T, Garcia-Larrea L, Bastuji H. Discriminating neurological from psychiatric hypersomnia using forced awakening test. **Clinical Neurophysiology**, 2013; 43: 171-9.
- Peter-Derex L., Devic P, Rogemond V, Rheims S, Mauguière F, Honnorat J. Full recovery of agrypnia associated with anti-Lgi1 antibodies encephalitis under immunomodulatory treatment. A case report with sequential polysomnographic assessment, **Sleep Medicine**, 2012; 13: 554-6.
- Peter-Derex L., Comte JC, Mauguière F, Salin PA. Density and frequency caudo-rostral gradients of sleep spindles recorded in human cortex. **Sleep**, 2012; 35: 69-79.
- Carra-Dalliere C, Horzinski L, Aygnac X, Vukusic S, Rodriguez D, Mauguiere F, Peter L., Goizet C, Bouhour F, Denier C, Confavreux C, Obadia M, Blanc F, de Seze J, Sedel F, Guennoc AM, Sartori E, Laplaud D, Antoine JC, Fogli A, Boespflug-Tanguy O, Labauge P. Natural history of adult-onset eIF2B-related disorders: A multicentric survey of 24 cases]. **Rev Neurol (Paris)**. 2011; 167: 802-11
- Peter-Derex L., Derex L, Bastuji, H. Hémiplégie et mouvements périodiques ; un accident vasculaire cérébral libérateur ? **Revue de Médecine du Sommeil**, 2011; 8 : 94-97
- Labauge P, Horzinski L, Aygnac X, Blanc P., Vukusic S, Rodriguez D, Mauguiere F, Peter L., Cyril Goizet C, Bouhour F, Denier C, Confavreux C, Obadia M, de Sèze J, Fogli A and Boespflug-Tanguy O. Natural history of adult-onset eIF2B-related disorders: a multi-centric survey of 16 cases. **Brain**. 2009; 132: 2161-9.
- Peter L., Pachoud B, Ravassard P, Salin P. Le travail de la mémoire pendant le sommeil. **Revue de Médecine du Sommeil**, 2008; 8: 24-29
- Peter L., Niel F, Catenoix H, Jung J, Demarquay G, Petiot P, Rudigoz RC, Boespflug-Tanguy O, Ryvlin P, Mauguière F. Acute neurological deterioration in ovarioleukodystrophy related to EIF2B mutations: pregnancy with oocyte donation is a potentially precipitating factor. **Eur J Neurol**. 2008; 15: 94-7.
- Peter L., Salin P. Sommeil paradoxal et plasticité synaptique. **Bulletin Sommeil-Vigilance de la SFRMS**, 2007, N°17

- Peter L, Jacob M, Krolak-Salmon P, Petitjean T, Bastuji H, Grange JD, Vighetto A. Prevalence of Papilloedema in patients with sleep apnea syndrome ; a prospective study. *J.Sleep Res.* 2007; 16: 313-18.
- Peter L, Jung J, Tilikete C, Ryvlin P, Mauguière F. Opsoclonus-myoclonus as a manifestation of Lyme disease. *JNNP.* 2006; 77: 1090-1.
- Peter L, Krolak-Salmon P, Pignat JC, Dardel P, Vighetto A. Rhinocerebral mucormycosis *Rev Neurol (Paris).* 2005; 161: 214-7.
- Peter L, Nighoghossian N, Jouvett A, Derex L, Hermier M, Philippeau F, Honnorat J, Trouillas P. Delayed post-anoxic leukoencephalopathy *Rev Neurol (Paris).* 2004; 160: 1085-8.

▪ **Ouvrages**

- « Le sommeil, une histoire à dormir debout », ouvrage collaboratif (MJ Challamel, C. Da Silva Ribeiro, L.Peter-Derex et B. Putois) sur le sommeil édité par la fondation APRIL (2013).
- les épilepsies temporales sans atrophie hippocampique: aspects électro-cliniques et enjeux chirurgicaux. Editions universitaires européennes (2011). ISBN-13:978-613-1-56369-0